

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
3 mars 2005 (03.03.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/019473 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ : C12Q 1/68

(74) Mandataires : DEMACHY, Charles etc.; GROSSET-FOURNIER & DEMACHY SARL, 54, rue Saint-Lazare, F-75009 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/001952

(22) Date de dépôt international : 22 juillet 2004 (22.07.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
03/09161 25 juillet 2003 (25.07.2003) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE [FR/FR]; 147, rue de l'Université, F-75338 Paris Cédex 07 (FR). UNIVERSITE DE LIMOGES [FR/FR]; Hôtel Burgy, 13, rue de Genève, F-87065 Limoges Cedex (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : OULMOUDEN, Ahmad [FR/FR]; 3, rue Xavier Bichat, F-87350 Panazol (FR). JULIEN, Raymond [FR/FR]; 20, avenue Foucaud, F-87000 Limoges (FR). LAFORET, Marie-Pierre [FR/FR]; 16, rue Gay Lussac, F-87350 Panazol (FR). LEVEZIEL, Hubert [FR/FR]; 4, rue Fitz James, F-87000 Limoges (FR).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: USE OF SILVER GENE FOR THE AUTHENTICATION OF THE RACIAL ORIGIN OF ANIMAL POPULATIONS, AND OF THE DERIVATIVE PRODUCTS THEREOF

(54) Titre : UTILISATION DU GENE SILVER POUR L'AUTHENTIFICATION DE L'ORIGINE RACIALE DES POPULATIONS ANIMALES ET DE LEURS PRODUITS DERIVES

(57) Abstract: The invention relates to the use of nucleotide sequences corresponding to the silver gene, also known as the SI gene, and to the different allelic forms thereof, or corresponding to fragments of said gene and of the different allelic forms of same, in order to perform a method for the identification of different populations or races of ruminant mammals, such as cattle, sheep or goats.

(57) Abrégé : L'invention a pour objet l'utilisation de séquences nucléotidiques correspondant au gène SILVER, encore désigné gène SI, et aux différentes formes alléliques de ce gène, ou correspondant à des fragments de ce gène ou de ses différentes formes alléliques, pour la mise en oeuvre d'un procédé d'identification des différentes populations ou races des mammifères ruminants tels que les bovins, les ovins, et les caprins.

WO 2005/019473 A2

IP20 Rec'd PCT/PTO 24 JAN 2006

UTILISATION DU GENE *SILVER* POUR L'AUTHENTIFICATION DE L'ORIGINE RACIALE DES POPULATIONS ANIMALES ET DE LEURS PRODUITS DERIVES

L'invention a pour objet l'utilisation de séquences nucléotidiques correspondant au gène *SILVER*, encore désigné gène *SI*, et aux différentes formes alléliques de ce gène, ou correspondant à des fragments de ce gène ou de ses différentes formes alléliques, pour la mise en oeuvre d'un procédé d'identification des différentes populations ou races des mammifères ruminants tels que les bovins, les ovins, et les caprins.

Depuis les récentes crises alimentaires en Europe, le consommateur veut être informé sur l'origine du produit : la notion de race est devenue déterminante pour les filières bovines de qualité, car elle est associée à un système d'élevage valorisant le terroir.

Le cheptel bovin français compte plus de 20 millions de têtes réparties en une quarantaine de races qui ont généralement une origine régionale bien identifiée et une couleur de robe typique, héritée du travail des premiers éleveurs sélectionneurs aux 18^{ème} et 19^{ème} siècles. Dans le cas de la production de viande bovine de qualité, la race d'origine du produit est une composante déterminante du cahier des charges, que l'éleveur veut garantir au consommateur. Le nom de la race devient une marque mise en valeur par le distributeur (par exemple le label rouge Blason Prestige pour la race Limousine, le label rouge Bœuf Gascon, ou l'AOC Maine-Anjou avec la race Rouge des Prés). Ainsi, les étiquettes des produits, 'label,' précisent l'origine, le cahier des charges, le type d'alimentation et la race, mais présentent aussi le produit sur pied avec une photographie, ce qui montre la valeur informative de l'aspect des animaux, dont la couleur est une composante majeure. Par ailleurs, la coloration de la robe a joué un rôle déterminant dans l'histoire des races bovines : alors qu'une race bovine présente une variabilité des performances et du génome, elle est précisément décrite et fixée pour sa couleur, qui devient donc un élément caractéristique de l'appartenance raciale d'un animal, et des produits qui en dérivent.

La présente invention découle de la mise en évidence par les Inventeurs d'un gène majeur de la coloration chez les bovins, à savoir du gène *SILVER*, et du fait que le

polymorphisme de ce gène chez les animaux est une caractéristique de l'appartenance raciale d'un animal. Deux allèles de ce gène ont été identifiés. Le premier, l'allèle *si*, propre à la race charolaise est causal(e) de la coloration blanc crème de sa robe. Le deuxième, *si*, affecte la même région que l'allèle charolais et caractérise une autre race bovine, à savoir la race simmental.

Si les marqueurs moléculaires anonymes comme les microsatellites permettent d'attribuer un animal à une race avec une probabilité élevée, ils ne permettent pas pour autant de garantir le respect de tous les critères définissant la race et s'avèrent très peu efficaces dans le cas d'échantillons provenant d'animaux croisés. En revanche, l'invention permet de garantir que les produits commercialisés respectent les critères attachés à la race, et en particulier son standard, attesté par la couleur de la robe. Par ailleurs, pour proposer un test moléculaire de traçabilité individuelle, il faudrait génotyper tous les animaux abattus, afin d'établir la correspondance entre le typage d'un échantillon de viande et le génotype d'un animal donné. Pour la traçabilité raciale, un seul typage est à réaliser pour être comparé au génotype de référence, caractéristique de la race. Le test de traçabilité raciale de la présente invention est plus simple à mettre en œuvre qu'un test de traçabilité individuelle. Dans ce contexte, l'invention permet aujourd'hui de donner aux éleveurs sélectionneurs de la race charolaise un moyen nouveau de garantir la traçabilité raciale de leurs animaux et de permettre, par les mêmes moyens, à tout opérateur économique, de vérifier la fiabilité de son fournisseur dans le cadre de ses accords contractuels, indépendamment d'un dispositif officiel de certification de produits.

L'invention a pour objet l'utilisation de séquences nucléotidiques correspondant au gène *SILVER*, encore désigné gène *SI*, et aux différentes formes alléliques de ce gène, ou correspondant à des fragments de ce gène ou de ses différentes formes alléliques, pour la mise en œuvre d'un procédé d'identification des différentes populations ou races des mammifères ruminants tels que les bovins, les ovins, et les caprins.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée, de séquences nucléotidiques correspondant au gène *SILVER* bovin représenté par SEQ ID NO : 1, codant pour la protéine bovine SI représentée par SEQ ID NO : 2, et aux différentes formes alléliques de ce gène, ou correspondant à des fragments de ce gène ou de ses différentes formes alléliques, pour la mise en œuvre d'un procédé

d'identification des différentes populations ou races bovines, ou de différents troupeaux bovins regroupant chacun plusieurs populations ou races bovines.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation de séquences nucléotidiques telles que définies ci-dessus, pour la mise en oeuvre d'une méthode permettant de contrôler, voire de certifier, l'appartenance d'un animal à une population ou race bovine particulière, ou à un troupeau bovin particulier, ou, au contraire, permettant de certifier l'exclusion de cet animal de cette population ou race, ou de ce troupeau particulier.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation de séquences nucléotidiques telles que définies ci-dessus, caractérisée en ce que les populations ou races bovines ou troupeaux bovins sont d'origine française.

L'invention concerne également l'utilisation susmentionnée :

– de la séquence nucléotidique correspondant à la forme allélique *si* représentée par SEQ ID NO : 3, codant pour la protéine bovine *si* représentée par SEQ ID NO : 4, ou correspondant à des fragments de cette forme allélique, ladite forme allélique comprenant la mutation G93A par rapport au gène *SI*, pour la mise en oeuvre d'une méthode permettant de contrôler, voire de certifier, l'appartenance d'un animal à la race charolaise,

– de la séquence nucléotidique correspondant à la forme allélique *si₁* représentée par SEQ ID NO : 5, codant pour la protéine bovine *si₁* représentée par SEQ ID NO : 6, ou correspondant à des fragments de cette forme allélique, ladite forme allélique comprenant une délétion des trois nucléotides TTC situés aux positions 82, 83 et 84 par rapport au gène *SI*, pour la mise en oeuvre d'une méthode permettant de contrôler, voire de certifier, l'appartenance d'un animal à la race simmental,

– de la séquence nucléotidique correspondant au gène *SI* bovin représenté par SEQ ID NO : 1, ou à des fragments de ce gène, pour la mise en oeuvre d'une méthode permettant de certifier l'exclusion d'un animal de la race charolaise.

L'invention concerne également l'utilisation susmentionnée, de fragments des séquences nucléotidiques correspondant aux formes alléliques *SI*, *si*, et *si₁*, représentées respectivement par SEQ ID NO : 1, 3, et 5, lesdits fragments étant choisis parmi ceux d'environ 10 à 300 nucléotides contenant les nucléotides situés aux positions 82 à 93 desdites séquences.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée, de fragments des séquences nucléotidiques correspondant aux formes alléliques *SI*, *si*, et *si₁*, lesdits fragments étant choisis parmi ceux de 294 nucléotides délimités par les nucléotides situés aux positions 9 et 302 des séquences SEQ ID NO : 1 et 3, ces fragments étant représentés respectivement par les séquences SEQ ID NO : 7, et SEQ ID NO : 8, et le fragment de 291 nucléotides délimité par les nucléotides situés aux positions 9 et 299 de la séquence SEQ ID NO : 5, ce fragment étant représenté par la séquence SEQ ID NO : 9.

L'invention a également pour objet l'utilisation d'amorces nucléotidiques permettant d'amplifier le nombre de copies du gène *SILVER*, ou des différentes formes alléliques de ce gène, ou des fragments de ce gène ou de ses différentes formes alléliques, tels que définis ci-dessus, pour la mise en oeuvre d'un procédé d'identification des différentes populations ou races des mammifères ruminants tels que les bovins, les ovins, et les caprins.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation d'amorces nucléotidiques susmentionnées, sous forme de couples d'amorces 5'-3', ces couples étant tels que :

– l'amorce 5' est choisie parmi l'amorce SIL10 représentée par la séquence SEQ ID NO : 10 suivante :

5' GTTGCTGGAAGGAAGAACAGGATGGATCTG 3'

ou toute séquence dérivée de cette séquence SEQ ID NO : 10, notamment par suppression et/ou substitution et/ou addition d'un ou plusieurs nucléotides, ladite séquence dérivée s'hybridant, tout comme la séquence SEQ ID NO : 10, avec tout ou partie de la séquence nucléotidique complémentaire des séquences nucléotidiques délimitées par les nucléotides situés aux positions 9 et 38 des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et 5,

– l'amorce 3' est choisie parmi l'amorce SIL8 représentée par la séquence SEQ ID NO : 11 suivante :

5' CAGTCCCAAGTGCCTGAACACACATGCACC 3'

ou toute séquence dérivée de cette séquence SEQ ID NO : 11, notamment par suppression et/ou substitution et/ou addition d'un ou plusieurs nucléotides, ladite séquence dérivée s'hybridant, tout comme la séquence SEQ ID NO : 11, avec tout ou partie des séquences nucléotidiques délimitées par les nucléotides situés aux positions

276 et 302 des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et par les nucléotides situés aux positions 273 et 299, de la séquence SEQ ID NO : 5.

L'invention concerne également la séquence nucléotidique caractérisée en ce qu'elle correspond au gène *SI* bovin représenté par SEQ ID NO : 1, ou aux fragments
5 suivants du gène *SI* :

- tout fragment choisi parmi ceux d'environ 10 à 300 nucléotides contenant les nucléotides situés aux positions 82 à 93 de la séquence SEQ ID NO : 1,
- le fragment SEQ ID NO : 7 de 294 nucléotides délimité par les nucléotides situés aux positions 9 et 302 de la séquence SEQ ID NO : 1.

10 L'invention a également pour objet la séquence nucléotidique caractérisée en ce qu'elle correspond au gène *si* bovin représenté par SEQ ID NO : 3, ou aux fragments suivants du gène *si* :

- tout fragment choisi parmi ceux d'environ 10 à 300 nucléotides contenant les nucléotides situés aux positions 82 à 93 de la séquence SEQ ID NO : 3,
- 15 - le fragment SEQ ID NO : 8 de 294 nucléotides délimité par les nucléotides situés aux positions 9 et 302 de la séquence SEQ ID NO : 3.

L'invention concerne également la séquence nucléotidique caractérisée en ce qu'elle correspond au gène *si₁* bovin représenté par SEQ ID NO : 5, ou aux fragments
20 suivants du gène *si₁* :

- tout fragment choisi parmi ceux d'environ 10 à 300 nucléotides contenant les nucléotides situés aux positions 82 à 93 de la séquence SEQ ID NO : 5,
- le fragment SEQ ID NO : 9 de 291 nucléotides délimité par les nucléotides situés aux positions 9 et 299 de la séquence SEQ ID NO : 5.

L'invention a également pour objet la séquence nucléotidique caractérisée en ce
25 qu'elle comprend :

- la séquence nucléotidique SIL10 représentée par la séquence SEQ ID NO : 10 suivante :

5' GTTGCTGGAAGGAAGAACAGGATGGATCTG 3'

30 ou toute séquence dérivée de cette séquence SEQ ID NO : 10, notamment par suppression et/ou substitution et/ou addition d'un ou plusieurs nucléotides, ladite séquence dérivée s'hybridant, tout comme la séquence SEQ ID NO : 10, avec tout ou partie de la séquence nucléotidique complémentaire des séquences nucléotidiques

délimitées par les nucléotides situés aux positions 9 et 38 des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et 5,

– la séquence nucléotidique SIL8 représentée par la séquence SEQ ID NO : 11 suivante :

5' CAGTCCCAAGTGCCTGAACACACATGCACC 3'

ou toute séquence dérivée de cette séquence SEQ ID NO : 11, notamment par suppression et/ou substitution et/ou addition d'un ou plusieurs nucléotides, ladite séquence dérivée s'hybridant, tout comme la séquence SEQ ID NO : 11, avec tout ou partie des séquences nucléotidiques délimitées par les nucléotides situés aux positions 276 et 302 des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et par les nucléotides situés aux positions 273 et 299, de la séquence SEQ ID NO : 5.

L'invention concerne également les couples d'amorces, dont chacune des deux amorces comprend, indépendamment l'une de l'autre, environ 10 à environ 30 nucléotides, caractérisés en ce qu'ils sont choisis de telle façon que l'une des deux séquences d'un couple d'amorces s'hybride avec une séquence d'environ 10 à environ 30 nucléotides comprise dans la séquence nucléotidique complémentaire de la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 1 et environ 60 des séquences nucléotidiques SEQ ID NO : 1, 3, et 5, tandis que l'autre séquence de ce même couple s'hybride avec une séquence d'environ 10 à environ 30 nucléotides comprise entre le nucléotide situé en position 94 et le dernier des nucléotides des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et 5.

L'invention a plus particulièrement pour objet les couples d'amorces pour l'amplification génique tels que définis ci-dessus, caractérisés en ce que :

– l'une des amorces est choisie parmi les séquences comprenant la séquence SIL10 représentée par SEQ ID NO : 10, ou toute séquence dérivée de cette dernière, telle que définie ci-dessus, ladite amorce étant avantageusement marquée, notamment de manière radioactive ou fluorescente,

– tandis que l'autre amorce est choisie parmi les séquences comprenant la séquence SIL8 représentée par SEQ ID NO : 11, ou toute séquence dérivée de cette dernière, telle que définie ci-dessus.

L'invention a également pour objet un procédé d'identification de populations ou races des mammifères ruminants tels que les bovins, les ovins, et les caprins, ledit

procédé étant effectué à partir d'un échantillon biologique prélevé sur l'animal, notamment à partir de sperme, embryon, sang, lait, poils, carcasse, ou viande, ou autres produits dérivés de ces derniers, et permettant de contrôler, voire de certifier, l'appartenance ou la non-appartenance de l'animal sur lequel a été prélevé ledit échantillon biologique à une population ou race de mammifères ruminants, ce procédé comprenant :

- une étape d'amplification du nombre de copies des différentes formes alléliques du gène *SILVER*, à savoir des allèles *SI*, et/ou *si*, et/ou *si₁*, et/ou de fragments de ces formes alléliques, spécifiques d'une population ou race de mammifères ruminants déterminés, et susceptibles d'être présents dans ledit échantillon biologique,
- une étape de détection desdites formes alléliques ou fragments de ces dernières.

L'invention a plus particulièrement pour objet un procédé d'identification tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que l'étape d'amplification du nombre de copies des différentes formes alléliques du gène *SILVER*, ou des fragments de ces formes alléliques, est effectué à l'aide d'un couple d'amorces susmentionné.

L'invention concerne plus particulièrement un procédé d'identification tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que :

- la détection d'un génotype comprenant l'allèle *si* dans l'échantillon biologique étudié, permet de certifier que ledit échantillon provient d'un animal appartenant à la race charolaise ou ayant au moins un ascendant de race charolaise,
- la détection d'un génotype comprenant l'allèle *si₁* dans l'échantillon biologique étudié, permet de certifier que ledit échantillon provient d'un animal appartenant à la race simmental ou ayant au moins un ascendant de race simmental,
- la détection d'un génotype comprenant l'allèle *SI*, permet de certifier que ledit échantillon ne provient pas d'un animal de la race charolaise.

L'invention a également pour objet un kit pour la mise en oeuvre d'un procédé tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un couple d'amorces susmentionné, et le cas échéant les réactifs nécessaires à la mise en oeuvre de la réaction d'amplification du nombre de copies des différentes formes alléliques du gène *SILVER*.

L'invention sera davantage illustrée à l'aide de la description détaillée qui suit de la mise en évidence du gène *SILVER* bovin, et de ses formes alléliques *si* et *si₁*.

Légende des figures

– Figure 1 : Transcrit du gène *SILVER* Bovin. La région 5' UTR est de 29 pb. La région 3'UTR a une taille de 107 pb suivie d'une queue polyA. Le site de polyadénylation est souligné. La protéine Pmel17 bovine est formée de 649 acides aminés. Le peptide signal est formé par les 24 premiers acides aminés. L'allèle si charolais conduit à la substitution d'une G glycine (G) en position 22 par une arginine (R).

– Figure 2 : Structure génomique de la région codante du gène *SILVER* Bovin. Les amorces SIL10 et SIL9 qui ont permis de l'amplifier à partir de l'ADN génomique sont indiquées. Les différents exons sont en gras. Les coordonnées des exons au niveau de ce fragment d'ADN sont récapitulées dans le tableau 2. Les sites donneurs GT et les sites accepteurs AG de l'épissage sont en italiques. La mutation charolaise (substitution de la guanine par l'adénine) est en position 96 (premier exon).

– Figure 3 : Comparaison des séquences nucléotidiques des transcrits du gène *SILVER* charolais et du transcrit RPE1. Les différences entre les deux séquences sont indiquées en gras. Il s'agit de l'absence de 499 pb de la région 5' mais également des modifications (A1151C), (CAG1458), (G1461A) et (C1864A). La mutation charolaise (G93A) est en position 93 (en gras et italique). Le codon d'initiation ATG de la traduction est en position 30 (en italiques) et le codon de terminaison (TGA) est en position 1977 (en italiques).

– Figure 4 : comparaison de séquences peptidiques déduites du transcrit du gène *SILVER* charolais et de celle déduite du transcrit RPE1. Les différences entre les deux séquences sont en gras. Il s'agit de l'absence des 157 premiers acides aminés mais également des modifications Q4677, G478S, et A612E. La modification (en gras et italique) qui caractérise la race charolaise est en position 22 (G22R).

I) Matériel et méthodes

Extraction des ARNs totaux à partir des échantillons de peaux bovines

L'extraction se pratique à partir d'un échantillon de peau de 2 cm² prélevé sur un individu bovin le plus rapidement possible après son abattage. La peau est rasée avec une lame de scalpel et débarrassée de sa couche adipeuse. L'échantillon est ensuite découpé en petits morceaux. L'extraction des ARNs est réalisée à l'aide du kit "RNeasy Maxi Kit" (Qiagen ; Référence : 75162) selon les recommandations du fournisseur. Les ARN totaux ainsi préparés sont utilisés pour la synthèse de l'ADN complémentaire (ADNc). Ils sont également utilisés dans la technique RACE-PCR pour disposer des régions 5' et 3' UTRs (régions non traduites) du transcrit du gène *SILVER*.

Synthèse des ADNcs

5 µg des ARN totaux des race charolaise et salers ont été rétro-transcrits à l'aide de la reverse transcriptase SuperScriptII (Invitrogen ; référence 18064-014), selon les recommandations du fournisseur. Les ADN complémentaires ainsi obtenus sont utilisés comme matrice pour obtenir en particulier la partie codante du gène *SILVER*.

Obtention des extrémités 5' et 3' d'ADN complémentaire

Le kit, SMART RACE cDNA Amplification Kit (Clontech ; référence K1811-1) a été utilisé pour obtenir des ADN complémentaires ligaturés à des adaptateurs en 5' et en 3'. 5 µg d'ARN totaux ont été utilisés selon les recommandations du fournisseur (Clontech).

Purification de l'ADN génomique à partir des échantillons de sang

5 ml de sang prélevé sur EDTA, transféré dans un tube 50 ml (Nalgène) sont dilués avec 4 volumes de TE 20:5 (Tris 20 mM : EDTA 5 mM). L'échantillon est ensuite incubé 15 min sur glace pour que la lyse des hématies ait lieu. Après une centrifugation de 4000 tpm pendant 20 min à 4°C le surnageant est éliminé doucement. Les cellules sont ensuite remises en suspension dans 15 ml de TE 20:5, suivi d'une centrifugation pendant 15 min à 4000 tpm et à 4°C. Deux lavages sont effectués (jusqu'à ce que le culot soit translucide). Le culot est ensuite repris dans 1/2 du volume

de sang de départ avec du TE 20 : 5, auquel on rajoute du SDS (1% final) et de la protéinase K (200 µg/ml final). Le mélange est incubé sous agitation (300 tpm) toute la nuit à 37 °C. L'ADN est ensuite précipité par addition de 1/3 du volume en acétate d'ammonium 7,5 M et 2 volumes d'éthanol absolu froid. Le culot est ensuite lavé avec de l'éthanol à 70%, séché, et repris (100 ng/µl) dans de l'eau et conservé à 4°C.

Amplifications par la technique PCR

Les amplifications de fragments d'ADN comportent invariablement une phase de dénaturation, une phase d'hybridation et une phase d'élongation. Ce cycle est répété 35 fois et il est suivi d'une étape d'élongation de 7 min. La durée de chacune des phases ainsi que les amorces utilisées seront précisés pour chaque amplification.

Purification de fragments d'ADN après séparation sur gel

Cette technique d'élution est utilisée dans les cas où il s'avère nécessaire de séparer un fragment d'intérêt de l'ADN contaminant, comme par exemple pour la préparation d'un insert avant clonage. Pour cela, on a utilisé le kit « QiaQuick Gel Extraction kit » (Qiagen, référence 28706) selon les recommandations du fabricant.

Technique de clonage

Les inventeurs ont utilisé pour cloner les fragments d'ADN, deux types de vecteurs commerciaux (Invitrogen). Le vecteur pCR2.1-TOPO (référence K4500-01) pour le clonage de fragments d'ADN de taille inférieure à 2 kpb et le vecteur TOPO XL (référence K4750-20) pour le clonage de fragments de tailles supérieurs à 2 kpb. Le clonage s'effectue selon les recommandations du fournisseur.

Séquençage de fragments d'ADN

Les séquences de fragments d'ADN clonés sont déterminées selon le principe de la technique de Sanger à l'aide d'un séquenceur automatique (ABI Prism 310 Genetic Analyser, Perkin Elmer).

Les réactions de séquençage sont menées grâce à l'utilisation d'une enzyme thermostable. Elles nécessitent environ 200 à 400 ng de matrice plasmidique, un mélange réactionnel commercial (Terminator Ready Mix, PRISM Ready Reaction

Ampli *Taq* FS, Perkin Elmer) contenant les dNTPs, les ddNTPs, le $MgCl_2$ et l'ADN polymérase (*Taq* FS) ainsi que 15 pmol d'amorce. Vingt-cinq cycles sont réalisés dans un volume final de 20 μ L : dénaturation à 96 °C 10 s, hybridation de l'amorce à 55 °C 5 s et élongation à 60 °C 4 min. L'ADN néosynthétisé est précipité par 80 μ L d'isopropanol 75%, lavé par 250 μ L d'isopropanol 75% afin d'éliminer les réactifs non utilisés qui pourraient perturber la migration, séché puis repris dans 20 μ L de TSR avant d'être dénaturé par traitement thermique.

II) Résultats

Données expérimentales

Isolement des régions 5' et 3' UTRs du gène *SILVER* de la race bovine charolaise

Les régions 5' et 3' UTRs (régions non traduites du transcrit) du gène *SILVER* de la race charolaise ont été obtenues à l'aide de couples d'amorces (Fig. 1) (SIL1/UPM et SIL2/NUP) et (SIL3/UPM et SIL4/NUP) respectivement. Ces amorces ont été déduites à partir de régions conservées des gènes *SILVER* humain (ACC. AK092881) et murin (ACC. AK012808) disponibles dans les banques de données. Dans les deux cas une PCR dite nichée est nécessaire pour obtenir un produit d'amplification. 1,5 μ l d'ADNc couplé aux adaptateurs ont été utilisés comme matrice. Nous avons utilisé la polymérase Abgene (Référence AM-266-615) selon les recommandations du fournisseur. Les conditions PCR sont les suivantes : 94°C 2min, (94°C 30, 61°C 30sec, 72°C 1min) X 35 cycles, 72°C 7min.

Obtention de la région 5'UTR

Après une première amplification avec le couple d'amorce SIL1/UPM (UPM : 10X Universal Primer A Mix ; Clontech), une seconde PCR avec le couple d'amorces SIL2/NUP (NUP : Nested Universal Primer A ; Clontech) a été réalisée avec 1,5 μ l de la première PCR dans les mêmes conditions d'amplification. L'amplifiat obtenu est ligaturé dans le vecteur pCR 2.1-TOPO et séquencé. La séquence obtenue comporte (Fig. 1) la région 5'UTR de 29 pb et 236 pb de la région codante du gène *SILVER*.

Obtention de la région 3'UTR

La même procédure a été employée pour obtenir la région 3'UTR du gène en utilisant les couples d'amorces SIL3/UPM et SIL4/NUP en première et en deuxième PCR respectivement. L'amplifiat obtenu a été également ligaturé dans le vecteur pCR 2.1-TOPO et séquencé. La séquence obtenue comporte les 27 dernières paires de bases de la région codante (Fig. 1) suivie de la région 3'UTR d'une taille de 107 pb et se termine par une queue poly(A).

Isolement de la totalité de la partie codante du gène *SILVER*

A partir des informations de séquence des régions 5' et 3' UTRs (Fig. 1) nous avons fait synthétiser trois amorces SIL5 (sens), SIL6 et SIL17 (anti-sens). Ces amorces ont été utilisées en première PCR (SIL5/SIL6) et en deuxième PCR (SIL5/SIL7) pour amplifier la totalité de la partie codante du gène *SILVER* à partir de l'ADNc des races charolaise et salers. 4 µl de chacun des amplifiats (charolais et salers) ont été clonés séparément dans le vecteur TOPO XL (Invitrogen) et séquencés. La figure 1 présente la totalité de la séquence obtenue pour la race charolaise.

Découverte de l'allèle charolais

La comparaison des séquences codantes du gène *SILVER* charolais et salers a révélé une seule différence : la substitution d'une guanine (Fig. 1) en position 64 chez le salers en une adénine chez le charolais. Nous avons désigné cet allèle du gène *SILVER* : *si*.

Etablissement de la structure génomique de la partie codante du gène *SILVER*

Pour obtenir la totalité de l'information génétique contenant la partie codante du gène *SILVER* de la race charolaise, nous avons utilisé le couple d'amorces SIL5/SIL9 (Fig. 1). En utilisant une Taq polymérase (Expand Long Template PCR System, Roche, référence 1 681 834) qui permet d'amplifier des fragments d'ADN jusqu'à 20 kpb, nous avons obtenu un fragment d'ADN génomique charolais d'environ 8 kpb. Ce dernier a

été cloné dans le vecteur TOPO XL (Invitrogen) et entièrement séquencé. La figure 2 représente la structure exon/intron de la partie codante du gène *SILVER* charolais.

Génotypage de l'allèle *si*

Pour l'étude de cette région, nous avons fait synthétiser une amorce (SIL8) dans la première région intronique (Fig. 2). En utilisant le couple d'amorce SIL10/SIL8, on obtient un fragment d'ADN génomique de 294 pb. Le séquençage direct de l'amplifiat nous renseigne immédiatement sur la situation de la mutation charolaise dans les autres races. Nous avons également analysé le cas de certains croisés dont l'un des parents est un individu charolais. Le tableau 1 ci-après présente les résultats du génotypage de allèle *si* et pour différentes races bovines.

| Races bovines | Allèles du gène <i>SILVER</i> | | | | | Nombre d'individus testés |
|--------------------|-------------------------------|--------------|--------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | <i>si/si</i> | <i>SI/SI</i> | <i>SI/si</i> | <i>si/si₁</i> | <i>SI/si₁</i> | |
| Charolaise | + | - | - | - | - | 41 |
| Limousine | - | + | - | - | - | 11 |
| Blonde d'Aquitaine | - | + | - | - | - | 5 |
| Salers | - | + | - | - | - | 8 |
| Maine Anjou | - | + | - | - | - | 3 |
| Montbéliarde | - | + | - | - | - | 3 |
| Gasconne | - | + | - | - | - | 12 |
| Aubrac | - | + | - | - | - | 10 |
| Parthenaise | - | + | - | - | - | 3 |
| Bazadaise | - | + | - | - | - | 6 |
| Normande | - | + | - | - | - | 10 |
| Blanc bleue | - | + | - | - | - | 6 |
| Prim'Holstein | - | + | - | - | - | 1 |

| | | | | | | | |
|------------|---|---|---|---|---|---|----|
| Croisés | 4 | - | - | + | - | - | 5 |
| Charolaise | 1 | - | - | - | + | - | |
| | | - | - | - | - | - | |
| Simmental | 2 | - | + | - | - | - | 12 |
| 5 | | - | - | - | - | + | |
| française | 5 | - | - | - | - | - | |
| | | - | - | - | - | - | |
| | | + | | | | | |

Tableau 1 : Génotypage de l'allèle *si* et *si_i* de différentes races bovines. L'allèle *si* est caractéristique de tous les individus de la race Charolaise. Cinq animaux croisés dont l'un des parents est charolais ont été également génotypés pour l'allèle *si*. Un des croisés est hétérozygote *si/si_i*. Il porte l'allèle charolais *si* et l'allèle *si_i*. L'allèle *si_i* caractérise les individus d'origine Simmental.

III) Analyse des données expérimentales

Transcrit et produit du gène *SILVER* bovin

L'ARNm du gène *SILVER* bovin a une taille de 2086 pb. Les régions 5' et 3' UTRs ont une taille de 29 pb et 107 pb respectivement (Fig.1). Le cadre de lecture ouvert a une taille de 1950 pb et code une protéine de 649 acides aminés avec un peptide signal de 24 acides aminés (Fig. 1).

Structure génomique de la partie codante

La partie codante du gène *SILVER* bovin comporte 11 exons et 10 introns (Fig.2). Les tailles et la position des différents exons sont mentionnées dans le tableau 2 ci-après. Les sites donneurs (GT) et accepteurs (AG) de l'épissage sont parfaitement conservés.

| Exons codants | Coordonnées au niveau | | Tailles pb |
|------------------|-----------------------|-----------|---------------|
| | Génomique | Transcrit | |
| Exon1 | 22-97 | 30-105 | 76 |
| Exon2 | 2318-2428 | 106-216 | 111 |
| Exon3 | 2574-2720 | 217-363 | 147 |
| Exon4 | 3796-3930 | 364-498 | 135 |
| Exon5 | 4307-4468 | 499-660 | 162 |
| Exon6 | 4725-5405 | 661-1341 | 681 |
| Exon7 | 6313-6429 | 1342-1458 | 117 |
| Exon8 | 6673-6757 | 1459-1543 | 85 |
| Exon9 | 6867-7072 | 1544-1749 | 206 |
| Exon10 | 7180-7267 | 1750-1837 | 88 |
| Exon11 | 7890-8031 | 1838-1979 | 142 |

Tableau 2 : Positions des exons codants au niveau génomique et au niveau du transcrit du gène *SILVER* Bovin. La position du premier nucléotide au niveau génomique correspond au premier nucléotide 5' de l'amorce SIL10 (Fig. 2). Au niveau du transcrit le premier nucléotide correspond au démarrage de la transcription (Fig. 1).

Appartenance raciale de l'allèle *si* et la découverte d'un nouvel allèle

L'analyse des données du génotypage (tableau 1) démontre que l'allèle *si* à l'état homozygote est rencontré uniquement pour les individus appartenant à la race charolaise. Les individus croisés de première génération dont l'un des parents est charolais sont également identifiables par leur génotype hétérozygote (*si/SI*).

Un des croisés (tableau 1) que nous avons analysé présente le génotype suivant : *si/si_l*. Il porte l'allèle charolais et un nouvel allèle *si_l*. L'allèle *si_l*, se caractérise (Fig. 1) par la délétion de trois nucléotides T, T, et C en position 53, 54 et 55 respectivement ($\Delta T53$, $\Delta T54$ et $\Delta C55$). Les positions sont indiquées par rapport au premier nucléotide (adénine A) du démarrage de la traduction. Cette délétion engendre (Fig.1) la perte d'un acide aminé leucine en position 18 ($\Delta L18$). Du fait de la position de cette délétion (adjacente à la mutation charolaise) en plus du rôle de l'acide aminé (leucine) dans l'efficacité de l'élimination du peptide signal, ce deuxième allèle du gène *SILVER* doit avoir un effet similaire à l'allèle charolais : une dilution de la couleur de la robe. Une des races, si non la seule qui possède un effet de dilution similaire à celui du charolais est la race Simmental.

Génotypage de l'allèle *si_i*

Nous avons génotypé 12 individus appartenant à la race Simmental française. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 1. L'allèle *si_i* est rencontré dans la race simmental française à l'état homozygote (*si_i/si_i*) et à l'état hétérozygote (*si_i/SI*). L'allèle sauvage à l'état homozygote (*SI/SI*) est également rencontré.

Homologies avec les données disponibles dans les banques

1. Données humaines et murines

La protéine Silver bovine (nommée également Pmel17) présente 79% et 76% d'homologie avec ses homologues humain (ACC. AK092881) et murin (ACC. AK092881) respectivement. Il est à noter que l'acide aminé Glycine (G) qui se trouve substitué par une arginine (R) dans le cas de la race bovine charolaise (Fig.1) est conservé chez les autres bovins, l'homme et la souris.

2. Données bovines

La comparaison de la séquence du transcrit du gène *SILVER* bovin avec les données disponibles dans les banques révèle la présence d'informations de séquences du gène *SILVER* bovin. Ces séquences sont de deux types : des ESTs (ACC : BM106313 ; AW352955 ; AW478070 ; BF604634 ; BF599555), mais également une séquence partielle (ACC : M81193) du transcrit du gène *SILVER* bovin.

Cette séquence partielle a été publiée sous le nom de RPE1 (retinal pigment epithelium) en 1992 par Kim RY et Wistow GJ (The cDNA RPE1 and monoclonal antibody HMB-50 define gene products preferentially expressed in retinal pigment epithelium, Exp Eye Res 1992 Nov ; 55 (5) : 657-62). Elle a été isolée à partir de l'épithélium rétinien. La séquence RPE1 (Fig. 3) publiée par Kim et Wiston correspond probablement à une séquence partielle du transcrit du gène *SILVER* bovin ou à un isoforme du même gène, exprimé au niveau de la rétine. Il lui manque (Fig. 3) en effet 499 pb de la région 5', région où se trouve justement la mutation charolaise. La séquence diffère également de celle que nous avons identifiée pour le gène *SILVER* par : la substitution de l'adénine en position 1151 par une cytosine (A1151C) ; la délétion du codon CAG en position 1458 (Δ CAG1458) ; la substitution de la guanine en position 1461 par une adénine (G1461A) et la substitution de la cytosine en position 1864 par

une adénine (C1864A). Les positions sont citées par rapport au transcrit bovin charolais (Fig. 3).

Ces différences au niveau de la séquence nucléotidique se traduisent par des modifications au niveau peptidique (Fig. 4). La délétion Δ CAG1458 conduit à la
5 délétion de l'acide aminé glutamine en position 477 (Δ Q477) ; la substitution G1461A au remplacement de l'acide aminé glycine par l'acide aminé sérine en position 478 (G478S) et la substitution C1864A au changement de l'acide aminé alanine en position 612 par l'acide glutamique (A612E). La substitution A1151C est silencieuse. La
10 position des acides aminés est citée par rapport à la séquence peptidique que nous avons déterminée (Fig. 4).

III) Commentaire et Discussion

La mutation *si* identifiée constitue le premier et unique marqueur moléculaire et
15 génétique caractérisant une seule race bovine en l'occurrence la race charolaise à l'exclusion de toutes les autres races. Sa découverte résulte de l'analyse des données phénotypiques et moléculaires obtenues chez la souris et l'homme publiées par d'autres auteurs (Berson et *al.*, Mol Biol Cell 2001 12(11):3451-64 ; Raposo et *al.*, J Cell Biol. 2001 Feb 19;152 (4):809-24 ; Kwon et *al.*, Nucleic Acids Res. 1995 Jan 11, 23(1):154-
20 8 ; Kwon et al Proc Natl Acad Sci U S A. 1991 Oct 15; 88(20):9228-32 ; Kim et al., 1992, Exp Eye Res Nov;55(5):657-62.). Elle prend en compte les travaux concernant la structure des mélanosomes chez les bovins (Renieri et al., Pigment Cell Res. (1993), 6, 165-170). Elle est également basée sur une réévaluation des données de séquences murines, humaines et bovines disponibles dans les banques. Elle est aussi
25 l'aboutissement d'un travail expérimental spécifique exploitant le génome des races bovines sélectionnées par les professionnels sur la base de leur phénotype de coloration de la robe.

Le marqueur génétique, sujet de cette innovation, caractérise l'allèle du gène bovin *SILVER* (nommé également *PMEL 17*, *GP100* ou *ME20M*). Le gène *silver* de la
30 souris participe à la biogenèse du mélanosome et cela est également probable chez les autres mammifères. La mutation du gène bovin *PMEL17* (*SILVER*) identifie ce dernier comme le gène de dilution, nommé ainsi précédemment sur la base des nombreuses

observations découlant de l'analyse des phénotypes d'animaux croisés, l'un des parents étant un charolais de race pure (inscrit au Herd Book).

L'allèle *si* charolais du gène *PMEL17* est caractérisé par la substitution de la guanine en (Fig.1) position 64 par une adénine (G64A). Cette substitution modifie le codon GGG en position 22, spécifiant l'acide aminé glycine ou G, en un codon AGG spécifiant l'arginine ou R (le nucléotide n°1 correspond à l'adénine du codon de démarrage ATG qui spécifie la méthionine ou M ; Fig. 1).

La mutation charolaise G64A affecte le peptide signal de la protéine PMEL 17, en un site essentiel pour sa maturation correcte dans le réticulum endoplasmique du mélanocyte. Ainsi, la protéine PMEL 17 incorrectement maturée ne peut plus s'engager dans la voie normale de son adressage au mélanosome via l'appareil de Golgi, organelle au sein duquel s'effectue la glycosylation. La PMEL 17 mutée ne peut donc pas atteindre finalement sous une forme correcte le mélanosome où sa fonction normale est de participer à la matrice sur laquelle s'effectue la polymérisation des mélanines et leur fixation. Le mélanosome charolais n'est donc pas ou très peu coloré, en raison du défaut structural ou de l'absence de la protéine PMEL17. A l'état homozygote, les deux allèles du gène *SILVER* sont mutés, ce qui a pour conséquence que toutes les protéines PMEL17 sont inefficaces dans la polymérisation et le dépôt des mélanines. Ainsi la mutation G64A conduit à la formation de la couleur « blanc crémeux », typique du bovin charolais. A l'état hétérozygote, un seul allèle est muté ce qui entraîne probablement que seule une moitié des protéines PMEL17 est inefficace. Le défaut partiel de la matrice du mélanosome se manifeste par une dilution de la couleur de l'animal croisé.

Dans le cas du deuxième allèle *si₁*, il s'agit de la délétion de trois nucléotides ($\Delta T53$, $\Delta T54$ et $\Delta C55$) dans la région codant le peptide signal. Cet allèle *si₁* conduit précisément à la délétion d'un acide aminé hydrophobe (leucine). Du fait de la position de cette délétion (adjacente à la mutation charolaise) en plus du rôle de l'acide aminé (leucine) dans l'efficacité de l'élimination du peptide signal, ce deuxième allèle du gène *SILVER* aura un effet similaire à l'allèle charolais : une dilution de la couleur de la robe. Nous avons génotypé 12 individus de la race simmental française. 5 individus sont homozygotes *si₁/si₁*, 5 autres sont hétérozygotes *SI/si₁* et deux possèdent l'allèle sauvage à l'état homozygote (*SI/SI*).

La race simmental a le même ancêtre commun datant du moyen age et dont le berceau se trouve dans la vallée de la rivière «Simme» en suisse, dans l'Oberland bernois (canton de Berne).

5 L'hétérozygotie que présente la race simmental française n'est pas surprenante dans la mesure où elle fait partie des races laitières en France qui sont très ouvertes sur l'extérieur, où la proportion de gènes étrangers atteint ou dépasse 75% (Boichard et al. 1996, INRA Prod. Anim., 9 (5), 323-335).

REVENDICATIONS

1. Utilisation de séquences nucléotidiques correspondant au gène *SILVER*, encore désigné gène *SI*, et aux différentes formes alléliques de ce gène, ou correspondant à des fragments de ce gène ou de ses différentes formes alléliques, pour la mise en oeuvre d'un procédé d'identification des différentes populations ou races des mammifères ruminants tels que les bovins, les ovins, et les caprins.

2. Utilisation selon la revendication 1, de séquences nucléotidiques correspondant au gène *SILVER* bovin représenté par SEQ ID NO : 1, codant pour la protéine bovine *SI* représentée par SEQ ID NO : 2, et aux différentes formes alléliques de ce gène, ou correspondant à des fragments de ce gène ou de ses différentes formes alléliques, pour la mise en oeuvre d'un procédé d'identification des différentes populations ou races bovines, ou de différents troupeaux bovins regroupant chacun plusieurs populations ou races bovines.

3. Utilisation de séquences nucléotidiques selon la revendication 1 ou 2, pour la mise en oeuvre d'une méthode permettant de contrôler, voire de certifier, l'appartenance d'un animal à une population ou race bovine particulière, ou à un troupeau bovin particulier, ou, au contraire, permettant de certifier l'exclusion de cet animal de cette population ou race, ou de ce troupeau particulier.

4. Utilisation de séquences nucléotidiques selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que les populations ou races bovines ou troupeaux bovins sont d'origine française.

5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4 :

– de la séquence nucléotidique correspondant à la forme allélique *si* représentée par SEQ ID NO : 3, codant pour la protéine bovine *si* représentée par SEQ ID NO : 4, ou à des fragments de cette forme allélique comprenant la mutation G93A par rapport au gène *SI*, pour la mise en oeuvre d'une méthode permettant de contrôler, voire de certifier, l'appartenance d'un animal à la race charolaise,

– de la séquence nucléotidique correspondant à la forme allélique *si₁*, représentée par SEQ ID NO : 5, codant pour la protéine bovine *si₁*, représentée par SEQ ID NO : 6, ou à des fragments de cette forme allélique comprenant une délétion des trois nucléotides TTC situés aux positions 82, 83 et 84 par rapport au gène *SI*, pour la mise en oeuvre d'une méthode permettant de contrôler, voire de certifier, l'appartenance d'un animal à la race simmental,

– de la séquence nucléotidique correspondant au gène *SI* bovin représenté par SEQ ID NO : 1, ou à des fragments de ce gène, pour la mise en oeuvre d'une méthode permettant de certifier l'exclusion d'un animal de la race charolaise.

6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5, de fragments des séquences nucléotidiques correspondant aux formes alléliques *SI*, *si*, et *si₁*, représentées respectivement par SEQ ID NO : 1, 3, et 5, lesdits fragments étant choisis parmi ceux d'environ 10 à 300 nucléotides contenant les nucléotides situés aux positions 82 à 93 desdites séquences.

7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 6, de fragments des séquences nucléotidiques correspondant aux formes alléliques *SI*, *si*, et *si₁*, lesdits fragments étant choisis parmi ceux de 294 nucléotides délimités par les nucléotides situés aux positions 9 et 302 des séquences SEQ ID NO : 1 et 3, ces fragments étant représentés respectivement par les séquences SEQ ID NO : 7, et SEQ ID NO : 8, et le fragment de 291 nucléotides délimité par les nucléotides situés aux positions 9 et 299 de la séquence SEQ ID NO : 5, ce fragment étant représenté par la séquence SEQ ID NO : 9.

8. Utilisation d'amorces nucléotidiques permettant d'amplifier le nombre de copies du gène *SILVER*, ou des différentes formes alléliques de ce gène, ou des fragments de ce gène ou de ses différentes formes alléliques, tels que définis dans l'une des revendications 1 à 7, pour la mise en oeuvre d'un procédé d'identification des différentes populations ou races des mammifères ruminants tels que les bovins, les ovins, et les caprins.

9. Utilisation d'amorces nucléotidiques selon la revendication 8, sous forme de couples d'amorces 5'-3', ces couples étant tels que :

– l'amorce 5' est choisie parmi l'amorce SIL10 représentée par la séquence SEQ ID NO : 10 suivante :

5' GTTGCTGGAAGGAAGAACAGGATGGATCTG 3'

ou toute séquence dérivée de cette séquence SEQ ID NO : 10, notamment par suppression et/ou substitution et/ou addition d'un ou plusieurs nucléotides, ladite séquence dérivée s'hybridant, tout comme la séquence SEQ ID NO : 10, avec tout ou partie de la séquence nucléotidique complémentaire des séquences nucléotidiques délimitées par les nucléotides situés aux positions 9 et 38 des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et 5,

– l'amorce 3' est choisie parmi l'amorce SIL8 représentée par la séquence SEQ ID NO : 11 suivante :

5' CAGTCCCAAGTGCCTGAACACACATGCACC 3'

ou toute séquence dérivée de cette séquence SEQ ID NO : 11, notamment par suppression et/ou substitution et/ou addition d'un ou plusieurs nucléotides, ladite séquence dérivée s'hybridant, tout comme la séquence SEQ ID NO : 11, avec tout ou partie des séquences nucléotidiques délimitées par les nucléotides situés aux positions 276 et 302 des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et par les nucléotides situés aux positions 273 et 299, de la séquence SEQ ID NO : 5.

10. Séquence nucléotidique caractérisée en ce qu'elle correspond au gène *SI* bovin représenté par SEQ ID NO : 1, ou aux fragments suivants du gène *SI* :

– tout fragment choisi parmi ceux d'environ 10 à 300 nucléotides contenant les nucléotides situés aux positions 82 à 93 de la séquence SEQ ID NO : 1,

– le fragment SEQ ID NO : 7 de 294 nucléotides délimité par les nucléotides situés aux positions 9 et 302 de la séquence SEQ ID NO : 1.

11. Séquence nucléotidique caractérisée en ce qu'elle correspond au gène *si* bovin représenté par SEQ ID NO : 3, ou aux fragments suivants du gène *si* :

– tout fragment choisi parmi ceux d'environ 10 à 300 nucléotides contenant les nucléotides situés aux positions 82 à 93 de la séquence SEQ ID NO : 3,

– le fragment SEQ ID NO : 8 de 294 nucléotides délimité par les nucléotides situés aux positions 9 et 302 de la séquence SEQ ID NO : 3.

12. Séquence nucléotidique caractérisée en ce qu'elle correspond au gène *si*, bovin représenté par SEQ ID NO : 5, ou aux fragments suivants du gène *si* :

– tout fragment choisi parmi ceux d'environ 10 à 300 nucléotides contenant les nucléotides situés aux positions 82 à 93 de la séquence SEQ ID NO : 5,

– le fragment SEQ ID NO : 9 de 291 nucléotides délimité par les nucléotides situés aux positions 9 et 299 de la séquence SEQ ID NO : 5.

13. Séquence nucléotidique caractérisée en ce qu'elle comprend :

– la séquence nucléotidique SIL10 représentée par la séquence SEQ ID NO : 10 suivante :

5' GTTGCTGGAAGGAAGAACAGGATGGATCTG 3'

ou toute séquence dérivée de cette séquence SEQ ID NO : 10, notamment par suppression et/ou substitution et/ou addition d'un ou plusieurs nucléotides, ladite séquence dérivée s'hybridant, tout comme la séquence SEQ ID NO : 10, avec tout ou partie de la séquence nucléotidique complémentaire des séquences nucléotidiques délimitées par les nucléotides situés aux positions 9 et 38 des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et 5,

– la séquence nucléotidique SIL8 représentée par la séquence SEQ ID NO : 11 suivante :

5' CAGTCCCAAGTGCCTGAACACACATGCACC 3'

ou toute séquence dérivée de cette séquence SEQ ID NO : 11, notamment par suppression et/ou substitution et/ou addition d'un ou plusieurs nucléotides, ladite séquence dérivée s'hybridant, tout comme la séquence SEQ ID NO : 11, avec tout ou partie des séquences nucléotidiques délimitées par les nucléotides situés aux positions 276 et 302 des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et par les nucléotides situés aux positions 273 et 299, de la séquence SEQ ID NO : 5.

14. Couples d'amorces, dont chacune des deux amorces comprend, indépendamment l'une de l'autre, environ 10 à environ 30 nucléotides, caractérisés en ce

qu'ils sont choisis de telle façon que l'une des deux séquences d'un couple d'amorces s'hybride avec une séquence d'environ 10 à environ 30 nucléotides comprise dans la séquence nucléotidique complémentaire de la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 1 et environ 60 des séquences nucléotidiques SEQ ID NO : 1, 3, et 5, tandis que l'autre séquence de ce même couple s'hybride avec une séquence d'environ 10 à environ 30 nucléotides comprise entre le nucléotide situé en position 94 et le dernier des nucléotides des séquences SEQ ID NO : 1, 3, et 5.

15. Couples d'amorces pour l'amplification génique selon la revendication 10, caractérisé en ce que :

– l'une des amorces est choisie parmi les séquences comprenant la séquence SIL10 représentée par SEQ ID NO : 10, ou toute séquence dérivée de cette dernière, selon la revendication 13, ladite amorce étant avantageusement marquée, notamment de manière radioactive ou fluorescente,

– tandis que l'autre amorce est choisie parmi les séquences comprenant la séquence SIL8 représentée par SEQ ID NO : 11, ou toute séquence dérivée de cette dernière, selon la revendication 13.

16. Procédé d'identification de populations ou races des mammifères ruminants tels que les bovins, les ovins, et les caprins, ledit procédé étant effectué à partir d'un échantillon biologique prélevé sur l'animal, notamment à partir de sperme, embryon, sang, lait, poils, carcasse, ou viande, ou autres produits dérivés de ces derniers, et permettant de contrôler, voire de certifier, l'appartenance ou la non-appartenance de l'animal sur lequel a été prélevé ledit échantillon biologique à une population ou race de mammifères ruminants, ce procédé comprenant :

– une étape d'amplification du nombre de copies des différentes formes alléliques du gène *SILVER*, à savoir des allèles *SI*, et/ou *si*, et/ou *si*₁, et/ou de fragments de ces formes alléliques, spécifiques d'une population ou race de mammifères ruminants déterminés, et susceptibles d'être présents dans ledit échantillon biologique,

– une étape de détection desdites formes alléliques ou fragments de ces dernières.

17. Procédé d'identification selon la revendication 16, caractérisé en ce que l'étape d'amplification du nombre de copies des différentes formes alléliques du gène *SILVER*, ou des fragments de ces formes alléliques, est effectué à l'aide d'un couple d'amorces selon la revendication 14 ou 15.

18. Procédé d'identification selon la revendication 16 ou 17, caractérisé en ce que :

– la détection d'un génotype comprenant l'allèle *si* dans l'échantillon biologique étudié, permet de certifier que ledit échantillon provient d'un animal appartenant à la race charolaise ou ayant au moins un ascendant de race charolaise,

– la détection d'un génotype comprenant l'allèle *si₁* dans l'échantillon biologique étudié, permet de certifier que ledit échantillon provient d'un animal appartenant à la race simmental ou ayant au moins un ascendant de race simmental,

– la détection d'un génotype comprenant l'allèle *SI*, permet de certifier que ledit échantillon ne provient pas d'un animal de la race charolaise.

19. Kit pour la mise en oeuvre d'un procédé selon l'une des revendications 16 à 18, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un couple d'amorces selon la revendication 14 ou 15, et le cas échéant les réactifs nécessaires à la mise en oeuvre de la réaction d'amplification du nombre de copies des différentes formes alléliques du gène *SILVER*.

| | | 1/9 | | | |
|------|--|---|--|-------------------|--|
| | | 5' UTR | | | |
| | | -29 | | | |
| SIL5 | | GGTCTTTGGTTGCTGGAAGGAAGAACAGG ¹⁺ M | | D L V L R K Y L L | |
| | | ATG GAT CTG GTG CTG AGA AAA TAC CTT CTC | | | |
| | | | | 10 | |
| | | | | 30 | |
| | | H V A L M G V L L A V R T T E G P R | | | |
| | | CAT GTG GCT CTG ATG GGT GTT CTT CTG GCT GTA AGG ACC ACA GAA GGA CCC AGA | | | |
| | | | | 28 | |
| | | | | 84 | |
| | | D R D W L G V S R Q L R I K A W N R | | | |
| | | GAC AGG GAC TGG CTT GGT GTC TCA AGG CAG CTC AGA ATT AAA GCA TGG AAC AGA | | | |
| | | | | 46 | |
| | | | | 138 | |
| | | Q L Y P E W T E S Q G P D C W R G G | | | |
| | | CAG CTG TAT CCA GAG TGG ACA GAA AGC CAG GGG CCT GAC TGC TGG AGA GGT GGC | | | |
| | | | | 64 | |
| | | | | 192 | |
| | | H I S L K V S N D G P T L I G A N A | | | |
| | | CAC ATA TCC CTG AAG GTC AGC AAT GAT GGG CCT ACA CTG ATT GGG GCA AAT GCT | | | |
| | | | | 82 | |
| | | | | 246 | |
| | | S F S I A L H F P K S Q K V L P D G | | | |
| | | TCC TTC TCT ATT GCC TTG CAC TTT CCT AAA AGC CAA AAG GTG CTG CCA GAT GGG | | | |
| | | | | 100 | |
| | | | | 300 | |
| | | Q V I W A N N T I I N G S Q V W G G | | | |
| | | CAG GTC ATC TGG GCC AAC AAC ACC ATC ATC AAT GGG AGC CAG GTG TGG GGA GGA | | | |
| | | | | 118 | |
| | | | | 354 | |
| | | Q L V Y P Q E P D D T C I F P D G E | | | |
| | | CAG CTG GTA TAT CCC CAA GAA CCT GAT GAT ACC TGC ATC TTC CCC GAT GGG GAG | | | |
| | | | | 136 | |
| | | | | 408 | |
| | | P C P S G P L S Q K R C F V Y V W K | | | |
| | | CCC TGC CCT TCT GGC CCT CTA TCT CAG AAA AGA TGC TTT GTT TAT GTC TGG AAG | | | |
| | | | | 154 | |
| | | | | 462 | |
| | | T W D Q Y W Q V L G G P V S G L S I | | | |
| | | ACC TGG GAC CAA TAC TGG CAA GTT CTG GGG GGC CCA GTG TCT GGA CTG AGC ATC | | | |
| | | | | 172 | |
| | | | | 516 | |
| | | G T D K A M L G T Y N M E V T V Y H | | | |
| | | GGG ACA GAC AAG GCA ATG CTG GGC ACA TAT AAC ATG GAA GTG ACT GTC TAC CAC | | | |
| | | | | 190 | |
| | | | | 570 | |
| | | R R G S Q S Y V P L A H S S S A F T | | | |
| | | CGC CGG GGG TCC CAG AGC TAT GTG CCC CTC GCT CAC TCC AGT TCA GCC TTC ACC | | | |
| | | | | 208 | |
| | | | | 624 | |
| | | I T D Q V P F S V S V S Q L Q A L D | | | |
| | | ATT ACT GAC CAG GTG CCC TTC TCT GTG AGT GTG TCT CAG CTG CAG GCC TTG GAT | | | |
| | | | | 226 | |
| | | | | 678 | |
| | | G R N K R F L R K Q P L T F A L Q L | | | |
| | | GGA AGG AAC AAG CGC TTC CTG AGA AAG CAG CCT CTG ACC TTT GCC CTC CAG CTC | | | |
| | | | | 244 | |
| | | | | 732 | |
| | | H D P S G Y L A G A D L S Y T W D F | | | |
| | | CAT GAT CCC AGT GGC TAT TTG GCT GGG GCT GAC CTT TCC TAC ACC TGG GAC TTT | | | |
| | | | | 262 | |
| | | | | 786 | |
| | | G D S T G T L I S R A L T V T H T Y | | | |
| | | GGT GAC AGT ACA GGG ACC CTG ATC TCT CGG GCA CTC ACG GTC ACT CAC ACT TAC | | | |
| | | | | 280 | |
| | | | | 840 | |
| | | L E S G P V T A Q V V L Q A A I P L | | | |
| | | CTA GAG TCT GGC CCA GTC ACT GCA CAG GTG GTG CTG CAG GCT GCC ATT CCT CTC | | | |
| | | | | 298 | |
| | | | | 894 | |
| | | T S C G S S P V P G T T D R H V T T | | | |
| | | ACC TCC TGT GGC TCC TCT CCA GTT CCA GGC ACT ACA GAT AGG CAT GTG ACA ACT | | | |
| | | | | 316 | |
| | | | | 948 | |
| | | A E A P G T T A G Q V P T T E V M G | | | |
| | | GCA GAG GCT CCT GGA ACC ACA GCT GGC CAA GTG CCT ACT ACA GAA GTC ATG GGC | | | |
| | | | | 334 | |
| | | | | 1002 | |
| | | T T P G Q V P T A E A P G T T V G W | | | |
| | | ACC ACA CCT GGC CAG GTG CCA ACT GCA GAG GCC CCT GGC ACC ACA GTT GGG TGG | | | |
| | | | | 352 | |
| | | | | 1056 | |
| | | V P T T E D V G T T P E Q V A T S K | | | |
| | | GTG CCA ACC ACA GAG GAT GTA GGT ACC ACA CCT GAG CAG GTG GCA ACC TCC AAA | | | |
| | | | | 370 | |
| | | | | 1110 | |
| | | V L S T T P V E M P T A K A T G R T | | | |
| | | GTC TTA AGT ACA ACA CCA GTG GAG ATG CCA ACT GCA AAA GCT ACA GGT AGG ACA | | | |
| | | | | 388 | |
| | | | | 1164 | |

Figure 1

2/9

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------------------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|
| P | E | V | S | T | T | E | P | S | G | T | T | V | T | Q | G | T | T | 406 | | | | | | | | |
| CCT | GAA | GTG | TCA | ACT | ACA | GAG | CCC | TCT | GGA | ACC | ACA | GTT | ACA | CAG | GGA | ACA | ACT | 1218 | | | | | | | | |
| P | E | L | V | E | T | T | A | G | E | V | S | T | P | E | P | A | G | 424 | | | | | | | | |
| CCA | GAG | CTG | GTG | GAG | ACC | ACA | GCT | GGA | GAG | GTG | TCC | ACT | CCT | GAG | CCT | GCG | GGT | 1272 | | | | | | | | |
| S | N | T | S | S | F | M | P | T | E | G | T | A | G | S | L | S | P | 442 | | | | | | | | |
| TCA | AAT | ACT | AGC | TCA | TTC | ATG | CCT | ACA | GAA | GGT | ACT | GCA | GGC | TCC | CTG | AGT | CCC | 1326 | | | | | | | | |
| L | P | D | D | T | A | T | L | V | L | E | K | R | Q | A | P | L | D | 460 | | | | | | | | |
| CTG | CCG | GAT | GAC | ACT | GCC | ACC | TTA | GTC | CTG | GAG | AAG | CGC | CAA | GCC | CCC | CTG | GAT | 1380 | | | | | | | | |
| C | V | L | Y | R | Y | G | S | F | S | L | T | L | D | I | V | Q | G | 478 | | | | | | | | |
| TGT | GTT | CTG | TAT | CGC | TAT | GGC | TCC | TTT | TCC | CTC | ACC | CTG | GAC | ATT | GTC | CAG | GGT | 1434 | | | | | | | | |
| I | E | S | A | E | I | L | Q | A | V | S | S | S | E | G | D | A | F | 496 | | | | | | | | |
| ATT | GAG | AGT | GCT | GAG | ATC | CTA | CAG | GCT | GTG | TCA | TCC | AGT | GAA | GGA | GAT | GCA | TTT | 1488 | | | | | | | | |
| E | L | T | V | S | C | Q | G | G | L | P | K | E | A | C | M | D | I | 514 | | | | | | | | |
| GAG | CTG | ACT | GTG | TCT | TGC | CAA | GGC | GGG | CTA | CCC | AAG | GAA | GCC | TGC | ATG | GAC | ATC | 1542 | | | | | | | | |
| S | S | P | G | C | Q | L | P | A | Q | R | L | C | Q | P | V | P | P | 532 | | | | | | | | |
| TCA | TCG | CCA | GGG | TGT | CAG | CTG | CCT | GCC | CAG | CGG | CTG | TGT | CAG | CCT | GTG | CCC | CCC | 1596 | | | | | | | | |
| S | P | A | C | Q | L | V | L | H | Q | V | L | K | G | G | S | G | T | 550 | | | | | | | | |
| AGC | CCA | GCC | TGC | CAG | CTG | GTT | TTG | CAC | CAG | GTA | CTG | AAG | GGT | GGC | TCA | GGG | ACC | 1650 | | | | | | | | |
| Y | C | L | N | V | S | L | A | D | A | N | S | L | A | M | V | S | T | 568 | | | | | | | | |
| TAC | TGC | CTC | AAT | GTG | TCT | TTG | GCT | GAT | GCC | AAT | AGC | CTG | GCG | ATG | GTC | AGC | ACC | 1704 | | | | | | | | |
| SIL3 → | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Q | L | V | M | P | G | Q | E | A | G | L | R | Q | A | P | L | F | V | 586 | | | | | | | | |
| CAG | CTT | GTC | ATG | CCT | GGG | CAA | GAA | GCA | GGC | CTC | AGG | CAG | GCT | CCT | CTG | TTC | GTG | 1758 | | | | | | | | |
| G | I | L | L | V | L | T | A | L | L | L | A | S | L | I | Y | R | R | 604 | | | | | | | | |
| GGC | ATC | TTG | CTG | GTG | CTA | ACA | GCT | TTG | TTG | CTT | GCA | TCT | CTG | ATA | TAC | AGG | CGA | 1812 | | | | | | | | |
| R | L | M | K | Q | G | S | A | V | P | L | P | Q | L | P | H | G | R | 622 | | | | | | | | |
| AGA | CTT | ATG | AAG | CAA | GGC | TCA | GCA | GTC | CCC | CTT | CCC | CAG | CTG | CCA | CAC | GGT | AGA | 1866 | | | | | | | | |
| T | Q | W | L | R | L | P | W | V | F | R | S | C | P | I | G | E | S | 640 | | | | | | | | |
| ACC | CAG | TGG | CTA | CGT | CTG | CCC | TGG | GTC | TTT | CGC | TCT | TGC | CCC | ATT | GGT | GAG | AGC | 1920 | | | | | | | | |
| K | P | L | L | S | G | Q | Q | V | * | | | | | | | | | SIL7 | 649 | | | | | | | |
| AAA | CCC | CTC | CTC | AGT | GGA | CAG | CAG | GTC | TGA | ← | | | | | | | | GTG | CTC | TTA | TGT | GAA | GTC | ATG | ATT | 1974 |
| SIL4 → | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TAC | CCA | GGT | GGA | CAG | CAA | GGC | CTG | TCT | TTT | ← | | | | | | | | CTC | TGG | TCT | TCC | CTC | AGA | GAC | TAC | 2028 |
| SIL6 → | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CAT | TGC | CTG | AAA | TAA | AGA | CTC | AGA | ACT | TG | ← | | | | | | | | SIL9 Poly(A) | | | | 2057 | | | | |
| 3'UTR | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Figure 1 (suite)

3/9

| | |
|---|------|
| SIL10 | |
| GTTGCTGGAAGGAAGAACAGGATGGATCTGGTGCTGAGAAAATACCTTCTCCATGTGGCTCTGATGGGTGTTCTTCTGGC | 80 |
| TGTAAGGACCACAGAAGGTGAGTGTGGGATGTTGGACATGAACAAGTGTGAATTTGGGGTTGCACACCTGCTCTGGTTTT | 160 |
| TCTCTCCCTAAAATGGAAGATATCAGTAGTGCTTCAGGTGTCTCCACCCATTTGATTTAGTGAGGACATGGGCAACTGA | 240 |
| GCTCCCTCCCCACATGAAGATTTGGGTGCATGTGTGTTTCAGGCCTTGGGACTGAACCTGAAAACAACCCCATCTACCTG | 320 |
| GATGGGTGAGAGAACAGTATGTCTCCGTGGCCCTAATTTTGAGATGCTCTGAATAGTGAGCTGGAACATGGGTGCCAAGG | 400 |
| TAGTAAATGAGTGGAACTCATTTAGGCTTTGTCTCAGGCCTTGGGATAGGGTATTTAGGAGATAGAGAAAGATAGGA | 480 |
| GATAGGAGAAAGGAGAAAGAGGATGTGGTATTGGATAGAAGGGTAATGAGGCACCTCATCCCCTCTTTGGGATGGGCATG | 560 |
| GGTGAACACAGCCCAGGCTTTTGTCTGGGGCTGGAAGAGACAGGCAGAAGGGTCTCAGCTGAGCATCACATGAAAGGGC | 640 |
| TCTGGGGGATTGGGGCCTCGTGACAGGAGCAAGCGGGTGGGGTGGGGATGGTGAGAGGGTCTGGAATGTCCCGTGCTGC | 720 |
| TCTGAGGAGGGAGGATTGGGAGTGGAGAAAGAATGGGGCATCTTATGATTCTCTTGTCTTGTGGTGAAGTATTCAGTGG | 800 |
| GATAATTCTAGATCCTCCCCAAGAGAATCAACCAGGTTTCTGGTACATGTTAGAGATGGAGTGAGGATAGTCTGTGATG | 880 |
| TGCAGAAATATCTACATTGTACCCAGTGCCCCCTTTCTCTAGATCCCTGGTCTCACAGACTTCTTGGAACTTCTCCTTG | 960 |
| ATCTGACTTCCTCATTCATGGTGTCAATTTCAAGTCTTATTCTTTTACTATGTTTCTTATTGTATTCTGGAATATCCTG | 1040 |
| TTCATATGTGTCCACCCAAGGCTCTTAATATGTTGTGCTTACTTTTGGATCCAGATTTTAAATCATAAGAAGACATT | 1120 |
| TTTATATAGTTCATGAAATTTTGCATGGACTGAGTTTGATAATTTTGTTTAGTGTGAATTAACATTGTGTTTATTTAAGA | 1200 |
| AAAAAAATATTTTTTACAGAAACCTACTGAATTTGTAGGGTTTTAAAATAACATGATGTCTGGGATTGCTTTTGAAT | 1280 |
| GCTTCAGCCAAAAACAAACGAACAACAAAAATAAAGGATAGATAAAGCAAATGTGACAAAATGCTGATAGTTGTTGGAC | 1360 |
| CTTGGGGAGACACATGCAGAGCCATCACATCACTTTTTTTCAGACATCTTCTTGGTCAGTTATAATCATTTTGTTTGTC | 1440 |
| CCCCTCCCAATTTCTACTTGCCTCTAGTCCATCCTCCTCACTGCTTGCCAAAGTGATCCTTCTAAACACAAATCTGAT | 1520 |
| CATATTCAAAAAGCTTTTGAAGGTAAGTTTTATGGTATATGCCATATATCAGTACAACAAACAAAATCGTCTGAGGTGC | 1600 |
| CGTTCCTACAGGATAAAGTCCAACTCCTTTGCCTGGCACTCCAAGCCCCACTCTATCTTCTTGGCCTCATCTCTCAT | 1680 |
| GATGTACATCAGCCACATTGCTAGTGTCTGCTCATGGCCTTCTGCCTAGAATGCTTTATGCCCCAGCCAACTATTTACTG | 1760 |
| TCTTCTCAGTCGACCAGAGTGCAATTTACCTGTTTAAAACTATCATTTTGTATACATTGTGCATGTCTATTATGGCT | 1840 |
| CATATTAAGCAATGCCTTGGATTATAGTAATTTATGTATATGTCTATTTTCATATACTTTAACCTGAACCCCTCAGAACC | 1920 |
| ATTTCTTTTTCATTTCTTAAAGTTCTTTGCACCTAGCCAGTGCCTGGTACGTCGTGGGTATTAGTAGATTAAATGCAC | 2000 |
| TTTAAGGAACTTCCCTTGTGTGTCATCAAGTGGCTAAGGCTCTGTGCTCCCAATGCAGGGGACCAGGGTTCAATCTCAGG | 2080 |
| TCAGGGAAGTATGATCCACAGGTCACTAAGAGTTTGCAAGCCACAACCTACCTGACCTCACATGCCACAACATAATCGA | 2160 |
| AGATCCCTCGTGCTGCAACTAAGTCTAGTGCAGTTAAATATATTTTTTTAATGCACTTTGAATGTGAGAATGAATGATG | 2240 |
| TGTCACAGACACTGTTGTCCCTGAGAAGGGAGTGAGTAATGATTTAGGGGCCCTCATAGTATATCTTCTCTTTTAGGAC | 2320 |
| CCAGAGACAGGGACTGGCTTGGTGTCTCAAGGCAGCTCAGAAATTAAGCATGGAACAGACAGCTGTATCCAGAGTGGACA | 2400 |
| GAAAGCCAGGGGCCCTGACTGCTGGAGAGGTAGGAACCTTGCAATTTCCAGGGAGGATATGGTGGAAATGGGTGGGGAGGG | 2480 |
| GAACGGGGTTGAATGTACTTAGGAAGATAGGGAAGGAAAAGGCATACAGGGAGGAGAAGCCAAGGAGCTAATTAATGCAG | 2560 |
| CTGCCCTTTTCAGGTGGCCACATATCCCTGAAGGTGACGAATGATGGGCCTACACTGATTGGGGCAAATGCTTCCTCTC | 2640 |
| TATTGCCTTGCACTTTCTTAAAGCCAAAAGGTGCTGCCAGATGGGCAGGTCATCTGGGCCAACACACCATCATCAATG | 2720 |
| GTGAGTACCTCTCCGCCCTCTTCCCAAGGTCCAGAATCCCTGGTATCCCAATGAGCTCAAGGAATCCTCCTCTCTTTT | 2800 |
| TTTTTTTTTTTTTTTACAAATTATATATGTAACACATATCACTGCAGAAAAATTAGAAAACACAGATAAACCAAAAAGA | 2880 |

Figure 2

4/9

AAAAAATTATAGTTCCCCAAATGGGGCACAGAAGACCCAGTGGACATAGAAGTTGGATAGACTTGGATTAACTGGTT 2960
 ACCAGTATGTGACCCCTGGACAAGTCACTGAATTGTTTTGTTCTTCCATTCCCTTATCTATAGAATGGGGATGATAACACT 3040
 TTAAAAGGTTCTTGTAAAGATTAAATGTGATAATATATAAAGATTTTAGCATAATGCCTGCCCTGTGCTGTGCTTAGTA 3120
 CCTTAGTTTAGACGCTTGGCAACCCCATGGACTGTAGCCACCAGGCTCCTCTGTCCATGTGGATTCTGCAGGCAAGAAT 3200
 ACTGGAGTGGGTCACCATGCACTCCTCCAGGGGATCTTCCCACTCAGGGATCGAACCCAGGTCCTAGCCTACAGTATTA 3280
 ATTGATGCTGTTATTTTTACTTTTATCCCACTAGCTAGAGCACATCATCCTAGACATTTTGATACATGGCCTACCAATTT 3360
 GTGTCCAGTGTAAAGATATACATGTGTGTCTCAGTGGCTCAGTCGTGTCTGACTCTTTGCAACCCCATGGACTGTAGCC 3440
 CGCGAAAGCTCCTCTGCCCATGGGATTGCCAGCCAAGAATACTGGAGCAGGTTGCCATTTCTTCTCCAGGGGATCTTT 3520
 CAACACAGGGATTGAATCCTTGTCTCCTGTGTTTCTGCAATTGGCAGGTGTATTCTTTACCACTGAGCCACCTGGGAAAC 3600
 CCCTTAAGTATATACATAAATCTTTTATAGTTTCCATTCTCCCTTCTACCACTCCAAATAGGTTATACCAAGGAGAAT 3680
 GTATTTTGGTAGCTAGGCAGTATTCTGGAGCCCTCTCTGGGAGTCATGTTAAAGGTTTGGTGTACAGTGAGGAATGC 3760
 CAGGGATTGAGGGAGACTTGCTGTCTCTTTTCAAGGAGCCAGGTGTGGGGAGGACAGCTGTTATATCCCAAGAACCTG 3840
 ATGATACCTGCATCTTCCCGATGGGGAGCCCTGCCCTTCTGGCCCTCTATCTCAGAAAAGATGCTTTGTTTATCTCTGG 3920
 AAGACCTGGGGTAAGAGTTTCCCTTCTCTGGCCTGTCACTTCACTTAAATTCACCTCTTCTTACCTGATCCCTTTCTT 4000
 TTGGTCTCATCCTTAAATCTGTGAGTTTCCCTAATCTTCACTTCCCCCATGACTCCTTCTTCTCCACAGCACCTAGTC 4080
 AACTCTATTATACTTCTTCTGGGAGCCCTGCTCCAATTATAGTCCCATCCCATGGACCCTCTCATAAGGACTTTTTTCC 4160
 TGCCCAACATATGCAAGCTTAACTCTCTGAAATAACCATCCTTGATACATCTCCTGACCTTCTTCTCTGGTTCCATCT 4240
 CTAACCCTGCCCCAGTCTCCTTTGACCAGTAACCCCTTCCCTACTCTTCTTCCAAAACCTCAGACCAATACTGGCAA 4320
 GTTCTGGGGGGCCAGTGTCTGGACTGAGCATCGGGACAGACAAGGCAATGTGGGCACATATAACATGGAAGTGAAGTGT 4400
 CTACCACCGCCGGGGTCCAGAGCTATGTGCCCTCTGCTCACTCCAGTTCAGCCTTCACCATTACTGGTAAGGACTGAG 4480
 GAGGGGACAAGGCCAGTTGAGGGCAGGAGAAGGTGGGGAGGCTGGGCTGGACAGGAAAGGGGAAAGAGGAAATGGTGTG 4560
 TAACCTTACAGGGGAGAACAGGAGATGTGGGCAGAGGATGTGGGGCTTGGAGCCCCTGAAGGGCCAGGCAGCTTGG 4640
 GTTGGTTGAAAAATATGGCTGTGAAAGAAGAAGCTGACAGAAAGAAGAACTTATGGTTCTCACTTCTCTGACTCCAATC 4720
 CCAGACCAAGTGCCTTCTCTGTGAGTGTGTCTCAGCTGCAGGCCTTGGATGGAAGGAACAAGCGCTTCTCTGAGAAAGCA 4800
 GCCTCTGACCTTTGCCCTCCAGCTCCATGATCCAGTGGCTATTTGGCTGGGGCTGACCTTCTTACACCTGGGACTTTG 4880
 GTGACAGTACAGGGACCTGATCTCTCGGGCACTCACGGTCACTCACACTTACCTAGAGTCTGGCCAGTCACTGCACAG 4960
 GTGGTGCTGCAGGCTGCCATTCTCTCACCTCCTGTGGCTCCTCTCCAGTTCAGGCACCTACAGATAGGCATGTGACAAC 5040
 TGCAGAGGCTCCTGGAACACAGCTGGCCAAGTGCCTACTACAGAAGTCAATGGGCACCACACCTGGCCAGGTGCCAACTG 5120
 CAGAGGCCCTTGGCACCACAGTTGGGTGGGTGCCAACACAGAGGATGTAGGTACCACACCTGAGCAGGTGGCAACCTCC 5200
 AAAGTCTTAAGTACAACACCACTGGAGATGCCAACTGCAAAAGCTACAGGTAGGACACCTGAAGTGTCAACTACAGAGCC 5280
 CTCTGGAACCAAGTTACACAGGGAACAACCTCCAGAGCTGGTGGAGACCACAGCTGGAGAGGTGTCCACTCCTGAGCCTG 5360
 CGGGTTCAAATACTAGCTCATTTCATGCCTACAGAAGGTACTGCAGGTAAGGGGGCCACCATGAATGAGTTCATAGAGGTG 5440
 GGGCATTTGTACAGCTCTGAAGACCTGAAAGAATTGCTCAGGACCCAGATGTTACTCAATCCTTAGCTTAGCAGTGGAG 5520
 TCCCTCAGAATCTTCACTGGTTTAAACCCCTAAGTCCCTCTTAATGGCACAGAATAGATCCAGAGTTCAGGAAACC 5600
 AGGGTCTTCTCCTAGGCCAGGGGTAGAGAGCTTATTCTCTTCTTCTGAAGAGAAGTTCAGGAAGCAGTGTGTGATCATTT 5680
 GGTGGTGGTGTCTCAGTCATGTCTGACTCTTGTGACCTCATGGACTATGGCCACCAGGCTCCTCTGTCCATAGAATTCT 5760

Figure 2 (suite 1)

5/9

CCAGGCAAGAACACTGGAGTGGGTGGCCATTTCCTTCTCCAGGGGATTTCCCTGCCAGGGATTAAACCCGAATTGGCA 5840
 GGTGGATTCTTTACCCGAGCCACCTAGAAAAGTCCCATGTGATCATTAGATAATACTTATACCTCATTTTCTGATTAAGTG 5920
 TAAACACAGAAATCTTTCTGACACCACTTCCCACCCCTGGATTCCCATCCCAAAGTAGGTTTACCTGGAATTGTGGTAGG 6000
 AATACTAAAAAGGGAGAAGTGAGATAGTGACACTATGACTTAACACATGTCAAATGTCTGACCCAGGACCTGGCACAGTG 6080
 TAGGGTGTGATAAACATTGGGATGTCTAAAATTCTGACTCTAACCTGTGACTCTGGGGCAGTCATTTCTCTTGGGCCT 6160
 TTCTTTATCTTAAAAATGAGAGTTTCCAGCTCTTGTCTGATTCTAAGCCTGGATCCAGTAGCTCTGACTCTACCTGGAA 6240
 AAATGCTTGTGTTGGGCCTGTTTTTCAGGTTAGTCATTTGCTTTTTGACTTTGCCTCTTTAATCCTCTCCTCCAGGCTCCCTG 6320
 AGTCCCTGCCGGATGACACTGCCACCTTAGTCCTGGAGAAGCGCCAAGCCCCCTGGATTGTGTTCTGTATCGCTATGG 6400
 CTCCTTTTCCCTCACCTGGACATTGTCCGTGAGTCTTGCCCTACATTGTCCGTAAGCTGGTGGAGGGAGGCGTGTGCTGC 6480
 TTAGGGTTGCCAGTGGGAAGCACACCTTGAAGGAATTACTACCTGGACAAGGAGAATACCCAGATCCCAGGGGTTTCA 6560
 TATGAAGGCAGAATGGGATTAGGGAGGCAGCCGAGGACCTTCTGGCCATGGGCCTTGGGGGAGGATAAGTAGAGGAGT 6640
 CTCAGACTTAAAAAATCTTGCAACTTTGCAGAGGGTATTGAGAGTGCTGAGATCCTACAGGCTGTGTATCCAGTGAAG 6720
 GAGATGCATTTGAGCTGACTGTGTCTTGCCAAGGCGGGTGAGTGTCCACGGTTGCCCTGAGAACTCCTGGGGTGACTGC 6800
 TGTCTCTTCTCTGGTGTCTAGTGTCCCTTCCAGATTCCCTGACGTAAGCTGACATCTCTCCAGGCTACCCAAGGAAG 6880
 CCTGCATGGACATCTCATCGCCAGGGGTGCAGCTGCCTGCCAGCGCTGTGTGAGCCTGTGCCCCCAGCCAGCCTGC 6960
 CAGCTGGTTTTGCACCAGGTACTGAAGGGTGGCTCAGGGACCTACTGCCTCAATGTGTCTTTGGCTGATGCCAATAGCCT 7040
 GCGCATGGTCAGCACCCAGCTTGTCTGCTGGTAGGTAGTTGGACAAGAGGTAGGATGAAGACACGGGGAGATGGTAGA 7120
 GGTTACCTACTAGAGGAAGCAGACACTGAATGCAGCCGTATCTGGGATTCCACCCATAGGGCAAGAAGCAGGCCTCAGGC 7200
 AGGCTCCTCTGTCTGTTGGGCATCTTGCTGGTGCTAACAGCTTTGTTGCTTGATCTCTGATATACAGGTGAGATCCCCGC 7280
 CATCCTGCTCCCACTCCTTTACCCCTTATTACCACCACCACTCTTCCCTCATGGGAAGAAGAAACCACCAACCCCTTTGGG 7360
 AAAGTGTAGAGTCCAAGAAAGAGCCAGACTTGGAAGTTCAACAGGTCTAGGCTGCAGTCTTGTGTTGGGACCCTGGGG 7440
 AAGTCCATTAACCCCTTCTGAGCCACTGAAAAGTAGGAAACATAATACCTGTCTGTGGGGCTGTTTTTCAGGGCTCTAGAC 7520
 AATGTGAGTAAACACCTGGTTCTGAAACAAAAGTGAATAAATGATGATCTCAATGACTGTGTTATGAATAATATCAA 7600
 CAGTGGAGAAGAAGTCAAGTGAAGTCTCCACCTGCCAGAAAGGCAATCCCTAGGCCTGGAGGGCTGAGGTCTCTCA 7680
 AAGCAGGGAAGCCTGTAGGGTGAGAGGGAAATGGTCAGAGCTTACCATAAACATAAGAGAGGATAAACCCCTGTTGGTGAG 7760
 AAGAGGAGGGAGCCAGGATCAAGACCAAGTCAACCTGGGTTATGGTTTGTCTTTTTTTTGTAGAGAAGCACAAAGAGGT 7840
 TGCCATTGACCACCACTAACCAGTATCCCTGCTTTTCTCCCAATATCAGGCGAAGACTTATGAAGCAAGGCTCAGCAGTC 7920
 CCCCTTCCCCAGCTGCCACACGGTAGAACCCAGTGGCTACGTCTGCCCTGGGTCTTCCGCTCTTGCCCCATTGGTGAGAG 8000
 CAAACCCCTCCTCAGTGGACAGCAGGTCTGAGTGCTCTTATGTGAAGTCATGATTTACCCAGGTGGACAGCAAGGCCTGT 8080
 CTTTCTCTGGTCTTCCCTCAGAGACTACCATTTGCCTGAAATAAAGACTCAGAACTTG 8138

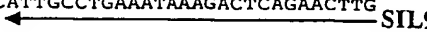


Figure 2 (suite 2)

6/9

| | | |
|-----------|---|-----|
| cDNA CH | GGTCTTTGGTTGCTGGAAGGAAGAACAGGATGGATCTGGTGCTGAGAAAATACCTTCTCC | 60 |
| cDNA RPE1 | ----- | |
| cDNA CH | ATGTGGCTCTGATGGGTGTTCTTCTGGCTGTAAGGACCACAGAAGGACCCAGAGACAGGG | 120 |
| cDNA RPE1 | ----- | |
| cDNA CH | ACTGGCTTGGTGTCTCAAGGCAGCTCAGAATTAAAGCATGGAACAGACAGCTGTATCCAG | 180 |
| cDNA RPE1 | ----- | |
| cDNA CH | AGTGGACAGAAAGCCAGGGGCGCTGACTGCTGGAGAGGTGGCCACATATCCCTGAAGGTCA | 240 |
| cDNA RPE1 | ----- | |
| cDNA CH | GCAATGATGGGCGCTACACTGATTGGGGCAAATGCTTCCTTCTCTATTGCCTTGCACTTTC | 300 |
| cDNA RPE1 | ----- | |
| cDNA CH | CTAAAAGCCAAAAGGTGCTGCCAGATGGGCAGGTCATCTGGGCCAACAAACACCATCATCA | 360 |
| cDNA RPE1 | ----- | |
| cDNA CH | ATGGGAGCCAGGTGTGGGGAGGACAGCTGGTATATCCCAAGAACCTGATGATACCTGCA | 420 |
| cDNA RPE1 | ----- | |
| cDNA CH | TCTTCCCCGATGGGGAGCCCTGCCCTTCTGGCCCTCTATCTCAGAAAAGATGCTTTGTTT | 480 |
| cDNA RPE1 | ----- | |
| cDNA CH | ATGTCTGGAAGACCTGGGACCAATACTGGCAAGTTCTGGGGGGCCAGTGCTGGACTGA | 540 |
| cDNA RPE1 | -----CCAATACTGGCAAGTTCTGGGGGGCCAGTGCTGGACTGA | 41 |
| | ***** | |
| cDNA CH | GCATCGGGACAGACAAGGCAATGCTGGGCACATATAACATGGAAGTGACTGTCTACCACC | 600 |
| cDNA RPE1 | GCATCGGGACAGACAAGGCAATGCTGGGCACATATAACATGGAAGTGACTGTCTACCACC | 101 |
| | ***** | |
| cDNA CH | GCCGGGGGTCCCAGAGCTATGTGCCCTCGCTCACTCCAGTTCAGCCTTCACCATTACTG | 660 |
| cDNA RPE1 | GCCGGGGGTCCCAGAGCTATGTGCCCTCGCTCACTCCAGTTCAGCCTTCACCATTACTG | 161 |
| | ***** | |
| cDNA CH | ACCAGGTGCCCTTCTCTGTGAGTGTGTCTCAGCTGCAGGCCTTGGATGGAAGGAACAAGC | 720 |
| cDNA RPE1 | ACCAGGTGCCCTTCTCTGTGAGTGTGTCTCAGCTGCAGGCCTTGGATGGAAGGAACAAGC | 221 |
| | ***** | |
| cDNA CH | GCTTCCTGAGAAAGCAGCCTCTGACCTTTGCCCTCCAGCTCCATGATCCCAGTGGCTATT | 780 |
| cDNA RPE1 | GCTTCCTGAGAAAGCAGCCTCTGACCTTTGCCCTCCAGCTCCATGATCCCAGTGGCTATT | 281 |
| | ***** | |
| cDNA CH | TGGCTGGGGCTGACCTTTCCTACACCTGGGACTTTGGTGACAGTACAGGGACCCTGATCT | 840 |
| cDNA RPE1 | TGGCTGGGGCTGACCTTTCCTACACCTGGGACTTTGGTGACAGTACAGGGACCCTGATCT | 341 |
| | ***** | |
| cDNA CH | CTCGGGCACTCACGGTCACTCACACTTACCTAGAGTCTGGCCCAGTCACTGCACAGGTGG | 900 |
| cDNA RPE1 | CTCGGGCACTCACGGTCACTCACACTTACCTAGAGTCTGGCCCAGTCACTGCACAGGTGG | 401 |
| | ***** | |
| cDNA CH | TGCTGCAGGCTGCCATTTCCTCTACCTCCTGTGGCTCCTCTCCAGTTCAGGCACTACAG | 960 |
| cDNA RPE1 | TGCTGCAGGCTGCCATTTCCTCTACCTCCTGTGGCTCCTCTCCAGTTCAGGCACTACAG | 461 |
| | ***** | |

Figure 3

7/9

| | | |
|-----------|---|------|
| cDNA CH | ATAGGCATGTGACAACTGCAGAGGCTCCTGGAACCACAGCTGGCCAAGTGCCTACTACAG | 1020 |
| cDNA RPE1 | ATAGGCATGTGACAACTGCAGAGGCTCCTGGAACCACAGCTGGCCAAGTGCCTACTACAG | 521 |
| ***** | | |
| cDNA CH | AAGTCATGGGCACCACACCTGGCCAGGTGCCAACTGCAGAGGCCCTGGCACCACAGTTG | 1080 |
| cDNA RPE1 | AAGTCATGGGCACCACACCTGGCCAGGTGCCAACTGCAGAGGCCCTGGCACCACAGTTG | 581 |
| ***** | | |
| cDNA CH | GGTGGGTGCCAACCACAGAGGATGTAGGTACCACACCTGAGCAGGTGGCAACCTCCAAAG | 1140 |
| cDNA RPE1 | GGTGGGTGCCAACCACAGAGGATGTAGGTACCACACCTGAGCAGGTGGCAACCTCCAAAG | 641 |
| ***** | | |
| cDNA CH | TCTTAAGTACAACACCACTGGAGATGCCAACTGCAAAAGCTACAGGTAGGACACCTGAAG | 1200 |
| cDNA RPE1 | TCTTAAGTACCACACCACTGGAGATGCCAACTGCAAAAGCTACAGGTAGGACACCTGAAG | 701 |
| ***** | | |
| cDNA CH | TGTCAACTACAGAGCCCTCTGGAACCACAGTTACACAGGGAACAACCTCCAGAGCTGGTGG | 1260 |
| cDNA RPE1 | TGTCAACTACAGAGCCCTCTGGAACCACAGTTACACAGGGAACAACCTCCAGAGCTGGTGG | 761 |
| ***** | | |
| cDNA CH | AGACCACAGCTGGAGAGGTGTCCACTCCTGAGCCTGCGGGTTCAAATACTAGCTCATTCA | 1320 |
| cDNA RPE1 | AGACCACAGCTGGAGAGGTGTCCACTCCTGAGCCTGCGGGTTCAAATACTAGCTCATTCA | 821 |
| ***** | | |
| cDNA CH | TGCCTACAGAAGGTACTGCAGGCTCCCTGAGTCCCCTGCCGGATGACACTGCCACCTTAG | 1380 |
| cDNA RPE1 | TGCCTACAGAAGGTACTGCAGGCTCCCTGAGTCCCCTGCCGGATGACACTGCCACCTTAG | 881 |
| ***** | | |
| cDNA CH | TCCTGGAGAAGCGCCAAGCCCCCTGGATTGTGTTCTGTATCGCTATGGCTCCTTTTCCC | 1440 |
| cDNA RPE1 | TCCTGGAGAAGCGCCAAGCCCCCTGGATTGTGTTCTGTATCGCTATGGCTCCTTTTCCC | 941 |
| ***** | | |
| cDNA CH | TCACCTGGACATTGTCCAGGTATTGAGAGTGCTGAGATCCTACAGGCTGTGTATCCA | 1500 |
| cDNA RPE1 | TCACCTGGACATTGTC---AGTATTGAGAGTGCTGAGATCCTACAGGCTGTGTATCCA | 998 |
| ***** | | |
| cDNA CH | GTGAAGGAGATGCATTTGAGCTGACTGTGCTTGCCAAGGCGGGCTACCCAAGGAAGCCT | 1560 |
| cDNA RPE1 | GTGAAGGAGATGCATTTGAGCTGACTGTGCTTGCCAAGGCGGGCTACCCAAGGAAGCCT | 1058 |
| ***** | | |
| cDNA CH | GCATGGACATCTCATCGCCAGGGTGTGAGCTGCCTGCCAGCGGCTGTGTGAGCCTGTGC | 1620 |
| cDNA RPE1 | GCATGGACATCTCATCGCCAGGGTGTGAGCTGCCTGCCAGCGGCTGTGTGAGCCTGTGC | 1118 |
| ***** | | |
| cDNA CH | CCCCAGCCCAGCCTGCCAGCTGGTTTTGCACCAGGTACTGAAGGTTGGCTCAGGGACCT | 1680 |
| cDNA RPE1 | CCCCAGCCCAGCCTGCCAGCTGGTTTTGCACCAGGTACTGAAGGTTGGCTCAGGGACCT | 1178 |
| ***** | | |
| cDNA CH | ACTGCCTCAATGTGTCTTTGGCTGATGCCAATAGCCTGGCGATGGTCAGCAGCCAGCTTG | 1740 |
| cDNA RPE1 | ACTGCCTCAATGTGTCTTTGGCTGATGCCAATAGCCTGGCGATGGTCAGCAGCCAGCTTG | 1238 |
| ***** | | |
| cDNA CH | TCATGCCTGGGCAAGAAGCAGGCCTCAGGCAGGCTCCTCTGTTCGTGGGCATCTTGCTGG | 1800 |
| cDNA RPE1 | TCATGCCTGGGCAAGAAGCAGGCCTCAGGCAGGCTCCTCTGTTCGTGGGCATCTTGCTGG | 1298 |
| ***** | | |
| cDNA CH | TGCTAACAGCTTTGTTGCTTGATCTCTGATATACAGGCGAAGACTTATGAAGCAAGGCT | 1860 |
| cDNA RPE1 | TGCTAACAGCTTTGTTGCTTGATCTCTGATATACAGGCGAAGACTTATGAAGCAAGGCT | 1358 |
| ***** | | |
| cDNA CH | CAGCAGTCCCCCTTCCCCAGCTGCCACACGGTAGAAGCCAGTGGCTACGTCTGCCCTGGG | 1920 |
| cDNA RPE1 | CAGAAGTCCCCCTTCCCCAGCTGCCACACGGTAGAAGCCAGTGGCTACGTCTGCCCTGGG | 1418 |
| *** ***** | | |

Figure 3 (suite 1)

8/9

```
cDNA CH      TCTTCCGCTCTTGCCCCATTGGTGAGAGCAAACCCCTCCTCAGTGGACAGCAGGTCTGAG 1980
cDNA RPE1    TCTTCCGCTCTTGCCCCATTGGTGAGAGCAAACCCCTCCTCAGTGGACAGCAGGTCTGAG 1478
*****

cDNA CH      TGCTCTTATGTGAAGTCATGATTTACCCAGGTGGACAGCAAGGCCTGTCTTTTCTCTGGT 2040
cDNA RPE1    TGCTCTTATGTGAAGTCATGATTTACCCAGGTGGACAGCAAGGCCTGTCTTTTCTCTGGT 1538
*****

cDNA CH      CTTCCCTCAGAGACTACCATTGCCTGAAATAAAGACTCAGAACTTG 2086
cDNA RPE1    CTTCCCTCAGAGACTACCATTGCCTGAAATAAAGACTCAGAACTTG 1584
*****
```

Figure 3 (suite 2)

| | |
|------------------------|---|
| Prot. CH Prot. RPE1 | MDLVLRKYLHVALMGVLLAVRTTEGPRDRDWLGVSRLRIKAWNRLYPEWTESQGPDC 60 ----- |
| Prot. CH Prot. RPE1 | WRGGHISLKVSNDBGPTLIGANASFSIALHFPKSQKVLDPDGQVIWANNTIINGSQVWGGQL 120 ----- |
| Prot. CH Prot. RPE1 | VYPQEPDDTCIFPDGEPSPGSLSQKRCFVYVWKTWDQYWQVLGGPVSGLSIGTDKAMLG 180 -----QYWQVLGGPVSGLSIGTDKAMLG 23 ***** |
| Prot. CH Prot. RPE1 | TYNMEVTVYHRRGSQSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQLQALDGRNKRFLRKQPLTF 240 TYNMEVTVYHRRGSQSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQLQALDGRNKRFLRKQPLTF 83 ***** |
| Prot. CH Prot. RPE1 | ALQLHDPSGYLAGADLSYTWDFGDSGTGLISRALTVTHTYLESGPVTAAQVVLQAAIPLTS 300 ALQLHDPSGYLAGADLSYTWDFGDSGTGLISRALTVTHTYLESGPVTAAQVVLQAAIPLTS 143 ***** |
| Prot. CH Prot. RPE1 | CGSSPVPGTTDRHVTTAEAPGTTAGQVPTTEVMGTTPGQVPTAEAPGTTVGWVPTTEDVG 360 CGSSPVPGTTDRHVTTAEAPGTTAGQVPTTEVMGTTPGQVPTAEAPGTTVGWVPTTEDVG 203 ***** |
| Prot. CH Prot. RPE1 | TTPEQVATSKVLSTTPVEMPTAKATGRTPEVSTTEPSGTTVTQGTTPELVETTAGEVSTP 420 TTPEQVATSKVLSTTPVEMPTAKATGRTPEVSTTEPSGTTVTQGTTPELVETTAGEVSTP 263 ***** |
| Prot. CH Prot. RPE1 | EPAGSNTSSFMPTEGTAGSLSPDDTATLVLEKRAPLDCVLYRYGSFSLTLDIVQIE 480 EPAGSNTSSFMPTEGTAGSLSPDDTATLVLEKRAPLDCVLYRYGSFSLTLDIV-SIE 322 ***** ** |
| Prot. CH Prot. RPE1 | SAEILQAVSSSEGDAFELTVSCQGGLPKEACMDISSPGCQLPAQRLCQVPVPPSPACQLVL 540 SAEILQAVSSSEGDAFELTVSCQGGLPKEACMDISSPGCQLPAQRLCQVPVPPSPACQLVL 382 ***** |
| Prot. CH Prot. RPE1 | HQVLKGGSGTYCLNVSLADANSLAMVSTQLVMPGQEAGLRQAPLFGVILLVLTALLASL 600 HQVLKGGSGTYCLNVSLADANSLAMVSTQLVMPGQEAGLRQAPLFGVILLVLTALLASL 442 ***** |
| Prot. CH Prot. RPE1 | IYRRRLMKQGSVAVPLPQLPHGRTQWLRLPWVFRSCPIGESKPLLSGQQV 649 IYRRRLMKQGSVAVPLPQLPHGRTQWLRLPWVFRSCPIGESKPLLSGQQV 491 ***** |

Figure 4

<110> INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
<120> UTILISATION DU GENE SILVER COMME MARQUEUR
<130> IFB 03 BT INR.SILV
<160> 11
<170> PatentIn version 3.1
<210> 1
<211> 8146
<212> ADN
<213> Bos taurus
<220>
<221> CDS
<222> (30) .. (105)
<223>
<220>
<221> CDS
<222> (2326) .. (2436)
<223>
<220>
<221> CDS
<222> (2582) .. (2728)
<223>
<220>
<221> CDS
<222> (3804) .. (3938)
<223>
<220>
<221> CDS
<222> (4315) .. (4476)
<223>
<220>
<221> CDS
<222> (4733) .. (5413)
<223>
<220>
<221> CDS
<222> (6321) .. (6437)
<223>
<220>
<221> CDS
<222> (6681) .. (6765)
<223>
<220>
<221> CDS
<222> (6875) .. (7080)
<223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (7188) .. (7275)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (7898) .. (8036)
 <223>

<400> 1

ggtctttggt tgctggaagg aagaacagg atg gat ctg gtg ctg aga aaa tac 53
 Met Asp Leu Val Leu Arg Lys Tyr
 1 5

ctt ctc cat gtg gct ctg atg ggt gtt ctt ctg gct gta ggg acc aca 101
 Leu Leu His Val Ala Leu Met Gly Val Leu Leu Ala Val Gly Thr Thr
 10 15 20

gaa g gtgagtgtgg gatgttgac atgaacaagt gtgaatttgg ggttgacacac 155
 Glu
 25

ctgctctggt ttttctctcc ctaaaatgga agatatcagt agtgcttcag gtgtctccca 215
 cccatttgat ttagtgagga catgggcaac tgagctccct ccccatga agatttgggt 275
 gcatgtgtgt tcaggcactt gggactgaac ctgaaaacaa ccccatctac ctggatgggt 335
 gagagaacag tatgtctccg tggccctaata tttgagatgc tctgaatagt gagctggaac 395
 atgggtgccca aggtagtaaa atgagtggaa actcatttag gctttgtctc aggcacttgg 455
 gatagggtat ttaggagata gagaaagata ggagatagga gaaaggagaa agaggatgtg 515
 gtattggata gaagggtaat gaggcacctc atccccctct tgggatgggc atgggtgaac 575
 acagcccagg cttttgttct ggggctggaa gagacaggca gaagggtctc agctgagcat 635
 cacatgaaag ggctctgggg gattggggcc tcgtgacagg agcaaggcgg gtgggtggg 695
 gatggtgaga gggctctggaa tgtcccgctgc tgctctgagg agggaggatt gggagtggag 755
 aaagaatggg gcatcttatg attctcttgt tctgtgtgtg aggtattcag tgggataatt 815
 ctagatcctc ccccaagaga atcaaccagg tttctggtac atgttagaga tggagtggag 875
 atagtctgtg atgtgcagaa atatctacat tgtaccccag tgcccccttt ctctagatcc 935
 ctggtctcac agacttcttg gaacttctcc ttgatctgac ttccctcatt catggtgtca 995
 tttcaagctt tattctttta ctatgttcgt tattgtattc tggaaatata ctgttcatat 1055
 gtgtccaccc aaggctctta atatgttgtg cttacttttt ggatccagat ttttaaaatc 1115
 ataagaagac atttttatat agttcatgaa attttgcag gactgagttt gataattttg 1175
 tttagtgtga attaacattg tgtttattta agaaaaaaa atattttttt acagaaacct 1235
 actgaatttg tagggtttta aaataacatg atgtctggga tttgcttttg aatgcttcag 1295
 ccaaaaaaca aacgaacaac aaaaataaag gatagataaa gcaaatgtga caaatgctg 1355
 atagttgttg gaccttgggg agacacatgc agagccatca catcactttt tttcagacat 1415
 ctttcttggt cagttataat cattttgttt gtccccactc ccaatttcta cttgcctcta 1475
 gtccatcctc ctactgctt gccaaagtga tccttctaaa acacaaatct gatcatattc 1535
 aaaaagcttt tgaagggtaa gttttatggt atatgccata tatcagtaca acaaacaaaa 1595
 tcgtctgagg tgccgttgcc tacaggataa agtccaaact cctttgcctg gcactccaag 1655
 cccccactct atcttcttg cctcatctct catgatgtac atcagccaca ttgctagtgt 1715
 ctgctcatgg ccttctgcct agaatgcttt atgccccagc caactattta ctgtctctt 1775
 cagtcgacca gagtgcaatt tacctgttta aaatctatca ttttgttata cattgtgcat 1835
 gtctattatg gctcatatta agcaatgcct tggattatag taatttatgt atatgtctat 1895
 ttcataatac ttaacctgaa ccccttcaga accatttctt tttcatttct taagttcttt 1955
 gcacctagcc cagtgccttg tacgtcgtgg gtattcagta gattaaaatg cactttaagg 2015
 aacttccctt gttgtccatc aagtggctaa ggctctgtgc tccaatgca ggggaccagg 2075
 gttcaatctc aggtcaggga actagatccc acaggtcaca actaagagtt tgcaagccac 2135
 aactacctga cctcacatgc cacaactaat cgaagatccc tcgtgctgca actaagtcct 2195
 agtgcagtta aatatatttt tttaatgcac tttgaatgtg agaataaatg atgtgtcaca 2255
 gacactgttg tcccctgaga agggagtgg taatgatttg agggccctca tagtatatct 2315

3/27

| | |
|---|------|
| tccttttttag ga ccc aga gac agg gac tgg ctt ggt gtc tca agg cag | 2363 |
| Gly Pro Arg Asp Arg Asp Trp Leu Gly Val Ser Arg Gln | |
| 30 35 | |
| ctc aga att aaa gca tgg aac aga cag ctg tat cca gag tgg aca gaa | 2411 |
| Leu Arg Ile Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu Tyr Pro Glu Trp Thr Glu | |
| 40 45 50 | |
| agc cag ggg cct gac tgc tgg aga g gtaggaactt ggcaatttcc | 2456 |
| Ser Gln Gly Pro Asp Cys Trp Arg | |
| 55 60 | |
| agggaggata tgggtggaaat ggggtggggag gggaacgggg ttgaatgtac ttaggaagat | 2516 |
| aggggaaggaa aaggcataca gggaggagaa gcccaaggagc taattaatgc agctgccctt | 2576 |
| ttcag gt ggc cac ata tcc ctg aag gtc agc aat gat ggg cct aca ctg | 2625 |
| Gly Gly His Ile Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu | |
| 65 70 75 | |
| att ggg gca aat gct tcc ttc tct att gcc ttg cac ttt cct aaa agc | 2673 |
| Ile Gly Ala Asn Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu His Phe Pro Lys Ser | |
| 80 85 90 | |
| caa aag gtg ctg cca gat ggg cag gtc atc tgg gcc aac aac acc atc | 2721 |
| Gln Lys Val Leu Pro Asp Gly Gln Val Ile Trp Ala Asn Asn Thr Ile | |
| 95 100 105 | |
| atc aat g gtgagtacct ctccgcctcc ttcccaagggt ccagaatccc tggatatccc | 2778 |
| Ile Asn | |
| 110 | |
| aatgagctca aggaatcctc ctccctctttt tttttttttt tttttacaaa ttatatatgt | 2838 |
| aacacatatt cactgcagaa aaattagaaa acacagataa accaaaaaga aaaaaaatta | 2898 |
| tagttcccca aatggggcac agaagaccca gtggacatag aagttggata gacttggatt | 2958 |
| taaactggtt accagtatgt gaccctggac aagtcactga attgttttgt tcttccattc | 3018 |
| ccttatctat agaatgggga tgataacact ttaaaagggtt ctgtgaagga ttaaaatgtg | 3078 |
| ataatatata aagatttttag cataatgcct gccctgtgct gtgcttagta ccttagttta | 3138 |
| gacgctttgc aaccccatgg actgtagccc accaggctcc tctgtccatg tggattctgc | 3198 |
| aggcaagaat actggagtgg gtcaccatgc actcctccag gggatcctcc caactcaggg | 3258 |
| atcgaacca ggtcctagcc tacagtatta attgatgctg ttattttttac ttttatccca | 3318 |
| ctagctagag cacatcatcc tagacatttt gatacatggc ctaccaattt gtgtccagtg | 3378 |
| taagaatata catgtgtgtg ctcaagtggct cagtctgtgc tgactctttg caaccccatg | 3438 |
| gactgtagcc cgcgaaagct cctctgcccc tgggattgcc cagccaagaa tactggagca | 3498 |
| ggttgccatt tcttctccca ggggatcttt caacacaggg attgaatcct tgtctcctgt | 3558 |
| gtttcttgca ttggcaggtg tattctttac cactgagcca cctgggaaac cccttaagta | 3618 |
| tatacacata aatcttttat agtttccatt ctcccttcta ccaactccaaa taggttatac | 3678 |
| caaggagaat gtatttttgg agctaggcag tattcctgga gccctctctt gggagtcagt | 3738 |
| ttaaagggtt tggtgtacag tgaggaatgc cagggtattga gggagacttg ctgtcttctt | 3798 |
| ttcag gg agc cag gtg tgg gga gga cag ctg gta tat ccc caa gaa cct | 3847 |
| Gly Ser Gln Val Trp Gly Gly Gln Leu Val Tyr Pro Gln Glu Pro | |
| 115 120 125 | |
| gat gat acc tgc atc ttc ccc gat ggg gag ccc tgc cct tct ggc cct | 3895 |
| Asp Asp Thr Cys Ile Phe Pro Asp Gly Glu Pro Cys Pro Ser Gly Pro | |
| 130 135 140 | |
| cta tct cag aaa aga tgc ttt gtt tat gtc tgg aag acc tgg g | 3938 |
| Leu Ser Gln Lys Arg Cys Phe Val Tyr Val Trp Lys Thr Trp | |
| 145 150 155 | |

4/27

| | |
|---|-----------------|
| gtaagagttt cccttctctg gcctgtcatt cacacttaaa ttcacttctt cctacctgat | 3998 |
| cccctttctt ttgttctcat ccttaaattc tgtgagtttc cctaattctt acttccccca | 4058 |
| tgactccttc ctcttccaca gcacctagtc aactctatta tacttctttc tgggagccct | 4118 |
| gctccaatta tagtcccatc ccatggacc cctcataagg acttttttcc tgcccaacat | 4178 |
| atgcaagctt aaactctctg aaataaccat ccttgataca tctcctgacc ttccttctct | 4238 |
| ggttccatct ctaaccctgc cccagtctcc tttgaccagt aaccccttc cctactcttc | 4298 |
| tttccaaaaa cctcag ac caa tac tgg caa gtt ctg ggg ggc cca gtg tct | 4349 |
| Asp Gln Tyr Trp Gln Val Leu Gly Gly Pro Val Ser | 160 165 |
| gga ctg agc atc ggg aca gac aag gca atg ctg ggc aca tat aac atg | 4397 |
| Gly Leu Ser Ile Gly Thr Asp Lys Ala Met Leu Gly Thr Tyr Asn Met | 170 175 180 |
| gaa gtg act gtc tac cac cgc cgg ggg tcc cag agc tat gtg ccc ctc | 4445 |
| Glu Val Thr Val Tyr His Arg Arg Gly Ser Gln Ser Tyr Val Pro Leu | 185 190 195 200 |
| gct cac tcc agt tca gcc ttc acc att act g gtaaggactg aggaggggac | 4496 |
| Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr Ile Thr | 205 210 |
| aaggccagtt gcagggcagg agaaggtggg gaggctgggc tggacaggaa aggggaaaga | 4556 |
| ggaaatggtg tgtaacctta caggggcaga accaggaaga tgtgggcaga gggatgtggg | 4616 |
| gcttggagcc cgtgaagggc caggcagctt gggttggttg aaaaatatgg ctgtgaaaga | 4676 |
| agaagctgac agaaagaaga acttatgggtt ctcactttct ctgactccaa tcccag ac | 4734 |
| Asp | |
| cag gtg ccc ttc tot gtg agt gtg tct cag ctg cag gcc ttg gat gga | 4782 |
| Gln Val Pro Phe Ser Val Ser Val Ser Gln Leu Gln Ala Leu Asp Gly | 215 220 225 |
| agg aac aag cgc ttc ctg aga aag cag cct ctg acc ttt gcc ctc cag | 4830 |
| Arg Asn Lys Arg Phe Leu Arg Lys Gln Pro Leu Thr Phe Ala Leu Gln | 230 235 240 |
| ctc cat gat ccc agt ggc tat ttg gct ggg gct gac ctt tcc tac acc | 4878 |
| Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Gly Ala Asp Leu Ser Tyr Thr | 245 250 255 |
| tgg gac ttt ggt gac agt aca ggg acc ctg atc tct cgg gca ctc acg | 4926 |
| Trp Asp Phe Gly Asp Ser Thr Gly Thr Leu Ile Ser Arg Ala Leu Thr | 260 265 270 275 |
| gtc act cac act tac cta gag tct ggc cca gtc act gca cag gtg gtg | 4974 |
| Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Ser Gly Pro Val Thr Ala Gln Val Val | 280 285 290 |
| ctg cag gct gcc att cct ctc acc tcc tgt ggc tcc tct cca gtt cca | 5022 |
| Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser Pro Val-Pro | 295 300 305 |
| ggc act aca gat agg cat gtg aca act gca gag gct cct gga acc aca | 5070 |
| Gly Thr Thr Asp Arg His Val Thr Thr Ala Glu Ala Pro Gly Thr Thr | 310 315 320 |

5/27

| | |
|--|--|
| gct ggc caa gtg cct act aca gaa gtc atg ggc acc aca cct ggc cag Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Met Gly Thr Thr Pro Gly Gln 325 330 335 | 5118 |
| gtg cca act gca gag gcc cct ggc acc aca gtt ggg tgg gtg cca acc Val Pro Thr Ala Glu Ala Pro Gly Thr Thr Val Gly Trp Val Pro Thr 340 345 350 355 | 5166 |
| aca gag gat gta ggt acc aca cct gag cag gtg gca acc tcc aaa gtc Thr Glu Asp Val Gly Thr Thr Pro Glu Gln Val Ala Thr Ser Lys Val 360 365 370 | 5214 |
| tta agt aca aca cca gtg gag atg cca act gca aaa gct aca ggt agg Leu Ser Thr Thr Pro Val Glu Met Pro Thr Ala Lys Ala Thr Gly Arg 375 380 385 | 5262 |
| aca cct gaa gtg tca act aca gag ccc tct gga acc aca gtt aca cag Thr Pro Glu Val Ser Thr Thr Glu Pro Ser Gly Thr Thr Val Thr Gln 390 395 400 | 5310 |
| gga aca act cca gag ctg gtg gag acc aca gct gga gag gtg tcc act Gly Thr Thr Pro Glu Leu Val Glu Thr Thr Ala Gly Glu Val Ser Thr 405 410 415 | 5358 |
| cct gag cct gcg ggt tca aat act agc tca ttc atg cct aca gaa ggt Pro Glu Pro Ala Gly Ser Asn Thr Ser Ser Phe Met Pro Thr Glu Gly 420 425 430 435 | 5406 |
| act gca g gtaagggggc caccatgaat gagttcatag aggtggggca tttgtcacag Thr Ala | 5463 |
| ctctgaagac ctgaaagaat tgctcaggac ccagatgtta ctcaatcctt agcttagcag tggagtcgcc tcagaatcct cactgggtttt aaaacccctt aagtcctctt taatggcaca gaatagatcc agagttcagg aaaccagggt cttctcctag gccaggggta gagagcttat tctctcttcc tgaagagaag ttcaggaagc agtgtgtgat catttggtgg tgggtgctcag tcatgtctga ctctttgtga cctcatggac tatggccac caggctcctc tgtccataga attctccagg caagaacact ggagtgggtg gccatttcct tctccagggg attttccctg cccagggatt aaacccgaat tggcaggtgg attctttacc cgagccacct agaaaagtc atgtgatcat tagataatac ttataacctca ttttctgatt aagtgtaaac acagaaatct ttctgacacc acttcccacc cctggattcc catcccaaag taggtttacc tgggaattgtg gtaggaatac taaaaagggga gaagtgagat agtgacacta tgacttaaca catgtcaaat gtctgaccca ggacctggca cagtgtaggg tgtgataaac atttgggatg tctaaaattc tgactctaac cctgtgactc tggggcagtc atttctcttg ggcctttctt tatcttaaaa aatgagagtt tccagctctt gtctgattct aagcctggat ccagtagctc tgactctacc tggaaaaaatg cttgttgggc ctgttttcag gttagtcatt tgctttttga ctttgccctc | 5523 5583 5643 5703 5763 5823 5883 5943 6003 6063 6123 6183 6243 6303 |
| ttaatcctct cctccag gc tcc ctg agt ccc ctg ccg gat gac act gcc Gly Ser Leu Ser Pro Leu Pro Asp Asp Thr Ala 440 445 | 6352 |
| acc tta gtc ctg gag aag cgc caa gcc ccc ctg gat tgt gtt ctg tat Thr Leu Val Leu Glu Lys Arg Gln Ala Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr 450 455 460 | 6400 |
| cgc tat ggc tcc ttt tcc ctc acc ctg gac att gtc c gtgagtcttg Arg Tyr Gly Ser Phe Ser Leu Thr Leu Asp Ile Val 465 470 475 | 6447 |
| cctacattgt ccgtaagctg gtggagggag gcgtgtgctg cttaggggttg cccagtgga gcacaccttg gaaggaatta ctcacctgga caaggagaat acccagatcc caggggtttc | 6507 6567 |

| | |
|---|---------------------|
| atatgaaggc agaatgggat tagggaggca gcccgaggac cttcctggcc atgggccttg | 6627 |
| ggggaggata agtagaggag tctcagactt aaaaaaatct tgcaactttg cag ag | 6682 |
| | Gln |
| ggt att gag agt gct gag atc cta cag gct gtg tca tcc agt gaa gga | 6730 |
| Gly Ile Glu Ser Ala Glu Ile Leu Gln Ala Val Ser Ser Ser Glu Gly | |
| 480 485 490 | |
| gat gca ttt gag ctg act gtg tct tgc caa ggc gg gtgagtgtcc | 6775 |
| Asp Ala Phe Glu Leu Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly | |
| 495 500 | |
| cacggttgcc ctgagaactc ctgggggtgac tgctgtcctg ttctctgggtg tctagtgtcc | 6835 |
| cttcccagat tccctgacgt aagctgacat ctctcccag g cta ccc aag gaa gcc | 6890 |
| | Leu Pro Lys Glu Ala |
| | 510 |
| tgc atg gac atc tca tgc cca ggg tgt cag ctg cct gcc cag cgg ctg | 6938 |
| Cys Met Asp Ile Ser Ser Pro Gly Cys Gln Leu Pro Ala Gln Arg Leu | |
| 515 520 525 | |
| tgt cag cct gtg ccc ccc agc cca gcc tgc cag ctg gtt ttg cac cag | 6986 |
| Cys Gln Pro Val Pro Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln | |
| 530 535 540 | |
| gta ctg aag ggt ggc tca ggg acc tac tgc ctc aat gtg tct ttg gct | 7034 |
| Val Leu Lys Gly Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala | |
| 545 550 555 | |
| gat gcc aat agc ctg gcg atg gtc agc acc cag ctt gtc atg cct g | 7080 |
| Asp Ala Asn Ser Leu Ala Met Val Ser Thr Gln Leu Val Met Pro | |
| 560 565 570 | |
| gtaggtagtt ggacaagagg taggatgaag acacggggag atggtagagg ttacctacta | 7140 |
| gaggaagcag acaactgaatg cagccgtatc tgggattcca cccatag gg caa gaa | 7195 |
| | Gly Gln Glu |
| | 575 |
| gca ggc ctc agg cag gct cct ctg ttc gtg ggc atc ttg ctg gtg cta | 7243 |
| Ala Gly Leu Arg Gln Ala Pro Leu Phe Val Gly Ile Leu Leu Val Leu | |
| 580 585 590 | |
| aca gct ttg ttg ctt gca tct ctg ata tac ag gtgagatccc cgccatcctg | 7295 |
| Thr Ala Leu Leu Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg | |
| 595 600 | |
| ctcccactcc tttaccctt attaccacca ccactcttcc tcatgggaag aagaaaccac | 7355 |
| caaccctttt gggaaagtgt agagtccaag aaagagccca gacttggaag ttcaacaggt | 7415 |
| ctaggctgca gtcttgctgg tgggaccctg gggaagtcca ttaacccttc tgagccactg | 7475 |
| aaaagttaga aacataatac ctgtcctgtg gggctgtttt cagggtctta gacaatgtga | 7535 |
| gtaaaacacc tggttctgaa acaaaagtgg aataaatgat gatctcaatg actgttggtta | 7595 |
| tgaataatat caacagtga gaagaactca gtgaactgag ttctccacct gccagaaagg | 7655 |
| caaatcccta ggcttgagg gctgaggtcc tcaaagcagg gaagcctgta gggtagaggg | 7715 |
| gaaatggtca gagcttacca taaacataag agaggataaa ccctgttggt gagaagagga | 7775 |
| gggagccagg atcaagacca agtcaacctg ggttatggtt tagtcttttt tttttagaga | 7835 |
| agcaciaaaga ggttgccatt gaccaccact aaccagtatc cctgcttttc tcccaatatc | 7895 |

7/27

ag g cga aga ctt atg aag caa ggc tca gca gtc ccc ctt ccc cag ctg 7943
 Arg Arg Leu Met Lys Gln Gly Ser Ala Val Pro Leu Pro Gln Leu
 605 610 615

cca cac ggt aga acc cag tgg cta cgt ctg ccc tgg gtc ttc cgc tct 7991
 Pro His Gly Arg Thr Gln Trp Leu Arg Leu Pro Trp Val Phe Arg Ser
 620 625 630

tgc ccc att ggt gag agc aaa ccc ctc ctc agt gga cag cag gtc 8036
 Cys Pro Ile Gly Glu Ser Lys Pro Leu Leu Ser Gly Gln Gln Val
 635 640 645

tgagtgtctt tatgtgaagt catgattttac ccaggtggac agcaaggcct gtctttttctc 8096
 tgggtcttccc tcagagacta ccattgcctg aaataaagac tcagaacttg 8146

<210> 2
 <211> 649
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 2
 Met Asp Leu Val Leu Arg Lys Tyr Leu Leu His Val Ala Leu Met Gly
 1 5 10 15
 Val Leu Leu Ala Val Gly Thr Thr Glu Gly Pro Arg Asp Arg Asp Trp
 20 25 30
 Leu Gly Val Ser Arg Gln Leu Arg Ile Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu
 35 40 45
 Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ser Gln Gly Pro Asp Cys Trp Arg Gly Gly
 50 55 60
 His Ile Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu Ile Gly Ala
 65 70 75 80
 Asn Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu His Phe Pro Lys Ser Gln Lys Val
 85 90 95
 Leu Pro Asp Gly Gln Val Ile Trp Ala Asn Asn Thr Ile Ile Asn Gly
 100 105 110
 Ser Gln Val Trp Gly Gly Gln Leu Val Tyr Pro Gln Glu Pro Asp Asp
 115 120 125
 Thr Cys Ile Phe Pro Asp Gly Glu Pro Cys Pro Ser Gly Pro Leu Ser
 130 135 140
 Gln Lys Arg Cys Phe Val Tyr Val Trp Lys Thr Trp Asp Gln Tyr Trp
 145 150 155 160
 Gln Val Leu Gly Gly Pro Val Ser Gly Leu Ser Ile Gly Thr Asp Lys
 165 170 175
 Ala Met Leu Gly Thr Tyr Asn Met Glu Val Thr Val Tyr His Arg Arg
 180 185 190
 Gly Ser Gln Ser Tyr Val Pro Leu Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr
 195 200 205

8/27

Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val Ser Val Ser Gln Leu Gln Ala
 210 215 220
 Leu Asp Gly Arg Asn Lys Arg Phe Leu Arg Lys Gln Pro Leu Thr Phe
 225 230 235 240
 Ala Leu Gln Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Gly Ala Asp Leu
 245 250 255
 Ser Tyr Thr Trp Asp Phe Gly Asp Ser Thr Gly Thr Leu Ile Ser Arg
 260 265 270
 Ala Leu Thr Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Ser Gly Pro Val Thr Ala
 275 280 285
 Gln Val Val Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser
 290 295 300
 Pro Val Pro Gly Thr Thr Asp Arg His Val Thr Thr Ala Glu Ala Pro
 305 310 315 320
 Gly Thr Thr Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Met Gly Thr Thr
 325 330 335
 Pro Gly Gln Val Pro Thr Ala Glu Ala Pro Gly Thr Thr Val Gly Trp
 340 345 350
 Val Pro Thr Thr Glu Asp Val Gly Thr Thr Pro Glu Gln Val Ala Thr
 355 360 365
 Ser Lys Val Leu Ser Thr Thr Pro Val Glu Met Pro Thr Ala Lys Ala
 370 375 380
 Thr Gly Arg Thr Pro Glu Val Ser Thr Thr Glu Pro Ser Gly Thr Thr
 385 390 395 400
 Val Thr Gln Gly Thr Thr Pro Glu Leu Val Glu Thr Thr Ala Gly Glu
 405 410 415
 Val Ser Thr Pro Glu Pro Ala Gly Ser Asn Thr Ser Ser Phe Met Pro
 420 425 430
 Thr Glu Gly Thr Ala Gly Ser Leu Ser Pro Leu Pro Asp Asp Thr Ala
 435 440 445
 Thr Leu Val Leu Glu Lys Arg Gln Ala Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr
 450 455 460
 Arg Tyr Gly Ser Phe Ser Leu Thr Leu Asp Ile Val Gln Gly Ile Glu
 465 470 475 480
 Ser Ala Glu Ile Leu Gln Ala Val Ser Ser Ser Glu Gly Asp Ala Phe
 485 490 495
 Glu Leu Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met
 500 505 510
 Asp Ile Ser Ser Pro Gly Cys Gln Leu Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln
 515 520 525

9/27

Pro Val Pro Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln Val Leu
 530 535 540
 Lys Gly Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Ala
 545 550 555 560
 Asn Ser Leu Ala Met Val Ser Thr Gln Leu Val Met Pro Gly Gln Glu
 565 570 575
 Ala Gly Leu Arg Gln Ala Pro Leu Phe Val Gly Ile Leu Leu Val Leu
 580 585 590
 Thr Ala Leu Leu Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg Arg Arg Leu Met Lys
 595 600 605
 Gln Gly Ser Ala Val Pro Leu Pro Gln Leu Pro His Gly Arg Thr Gln
 610 615 620
 Trp Leu Arg Leu Pro Trp Val Phe Arg Ser Cys Pro Ile Gly Glu Ser
 625 630 635 640
 Lys Pro Leu Leu Ser Gly Gln Gln Val
 645

<210> 3
 <211> 8146
 <212> ADN
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (30)..(105)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (2326)..(2436)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (2582)..(2728)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (3804)..(3938)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (4315)..(4476)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (4733)..(5413)
 <223>

10/27

<220>
 <221> CDS
 <222> (6321)..(6437)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (6681)..(6765)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (6875)..(7080)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (7188)..(7275)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (7898)..(8036)
 <223>

<400> 3
 ggtcttttggt tgctggaagg aagaacagg atg gat ctg gtg ctg aga aaa tac 53
 Met Asp Leu Val Leu Arg Lys Tyr
 1 5

ctt ctc cat gtg gct ctg atg ggt gtt ctt ctg gct gta agg acc aca 101
 Leu Leu His Val Ala Leu Met Gly Val Leu Leu Ala Val Arg Thr Thr
 10 15 20

gaa g gtgagtgtgg gatgttgac atgaacaagt gtgaatttgg ggttgacacac 155
 Glu
 25

| | | | | | | |
|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|------|
| ctgctctggt | ttttctctcc | ctaaaatgga | agatatcagt | agtgccttcag | gtgtctccca | 215 |
| cccatattgat | ttagtgagga | catgggcaac | tgagctccct | ccccacatga | agatttgggt | 275 |
| gcatgtgtgt | tcaggcactt | gggactgaac | ctgaaaacaa | ccccatctac | ctggatgggt | 335 |
| gagagaacag | tatgtctccg | tggcccta | tttgagatgc | tctgaatagt | gagctggaac | 395 |
| atgggtgcca | aggtagtaaa | atgagtggaa | actcatttag | gctttgtctc | aggcacttgg | 455 |
| gatagggtat | ttaggagata | gagaaagata | ggagatagga | gaaaggagaa | agaggatgtg | 515 |
| gtattggata | gaagggtaat | gaggcacctc | atccccctct | tgggatgggc | atgggtgaac | 575 |
| acagcccagg | cttttgttct | ggggctggaa | gagacaggca | gaagggtctc | agctgagcat | 635 |
| cacatgaaag | ggctctgggg | gattggggcc | tcgtgacagg | agcaaggcgg | gtgggggtggg | 695 |
| gatggtgaga | gggtctggaa | tgtcccgtgc | tgctctgagg | agggaggatt | gggagtggag | 755 |
| aaagaatggg | gcatcttatg | attctcttgt | tcttggtgtg | aggtattcag | tgggataatt | 815 |
| ctagatcctc | ccccaaagaga | atcaaccagg | tttctgggtac | atgttagaga | tggagtggag | 875 |
| atagtctgtg | atgtgcagaa | atatctacat | tgtaccccag | tgcccccttt | ctctagatcc | 935 |
| ctggctcac | agacttcttg | gaacttctcc | ttgatctgac | ttccctcatt | catgggtgtca | 995 |
| tttcaagtct | tattctttta | ctatgttcgt | tattgtattc | tggaaatata | ctgttcata | 1055 |
| gtgtccaccc | aaggctctta | atatgttgtg | cttacttttt | ggatccagat | ttttaaaatc | 1115 |
| ataagaagac | atttttatat | agttcatgaa | attttgcata | gactgagttt | gataattttg | 1175 |
| tttagtgtga | attaacattg | tgtttattta | agaaaaaaa | atattttttt | acagaaacct | 1235 |
| actgaatttg | tagggtttta | aaataacatg | atgtctggga | tttgcttttg | aatgcttcag | 1295 |
| ccaaaaaaca | aacgaacaac | aaaaataaag | gatagataaa | gcaaatgtga | caaaatgctg | 1355 |
| atagttgttg | gaccttgggg | agacacatgc | agagccatca | catcactttt | tttcagacat | 1415 |
| ctttcttggt | cagttataat | cattttgttt | gtccccactc | ccaattttcta | cttgccctcta | 1475 |
| gtccatcctc | ctcactgctt | gccaaagtga | tccttctaaa | acacaaatct | gatcatattc | 1535 |

11/27

| | | | | | | |
|--|---------------------|------------|-------------|------------|------------|------|
| aaaaagcttt | tgaagggtaa | gttttatggt | atatgccata | tatcagtaca | acaaacaaaa | 1595 |
| tcgtctgagg | tgccgttgcc | tacaggataa | agtccaaact | cctttgcctg | gcactccaag | 1655 |
| ccccactct | atcttcttgg | cctcatctct | catgatgtac | atcagccaca | ttgctagtgt | 1715 |
| ctgctcatgg | ccttctgcct | agaatgcttt | atgccccagc | caactattta | ctgtcttctt | 1775 |
| cagtcgacca | gagtgcaatt | tacctgttta | aaatctatca | ttttgttata | cattgtgcat | 1835 |
| gtctattatg | gctcatatta | agcaatgcct | tggattatag | taatttatgt | atatgtctat | 1895 |
| ttcatatact | ttaacctgaa | ccccttcaga | accatttctt | tttcatttct | taagttcttt | 1955 |
| gcacctagcc | cagtgcctgg | tacgtcgtgg | gtattcagta | gattaaaatg | cactttaagg | 2015 |
| aacttccctt | gttgccatc | aagtggctaa | ggctctgtgc | tcccaatgca | ggggaccagg | 2075 |
| gttcaatctc | aggtcaggga | actagatccc | acaggtcaca | actaagagtt | tgcaagccac | 2135 |
| aactacctga | cctcacatgc | cacaactaat | cgaagatccc | tcgtgctgca | actaagtcct | 2195 |
| agtgcagtta | aatatatttt | tttaatgcac | tttgaatgtg | agaatgaatg | atgtgtcaca | 2255 |
| gacactgttg | tcccctgaga | agggagtgag | taatgatattg | agggccctca | tagtatatct | 2315 |
| tccttttttag ga ccc aga gac agg gac tgg ctt ggt gtc tca agg cag | | | | | | |
| Gly Pro Arg Asp Arg Asp Trp Leu Gly Val Ser Arg Gln | | | | | | |
| 30 35 | | | | | | |
| 2363 | | | | | | |
| ctc aga att aaa gca tgg aac aga cag ctg tat | cca gag tgg aca gaa | 2411 | | | | |
| Leu Arg Ile Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu Tyr | Pro Glu Trp Thr Glu | | | | | |
| 40 | 45 | 50 | | | | |
| agc cag ggg cct gac tgc tgg aga g gtaggaactt ggcaatttcc | | | | | | |
| Ser Gln Gly Pro Asp Cys Trp Arg | 2456 | | | | | |
| 55 | 60 | | | | | |
| agggaggata tggtggaaat ggggtggggag gggaacgggg ttgaatgtac ttaggaagat | | | | | | |
| aggggaaggaa aaggcataca gggaggagaa gccaaggagc taattaatgc agctgccctt | 2516 | | | | | |
| 2576 | | | | | | |
| ttcag gt ggc cac ata tcc ctg aag gtc agc aat gat ggg cct aca ctg | 2625 | | | | | |
| Gly Gly His Ile Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu | | | | | | |
| 65 | 70 | 75 | | | | |
| att ggg gca aat gct tcc ttc tct att gcc ttg cac ttt cct aaa agc | | | | | | |
| Ile Gly Ala Asn Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu His Phe Pro Lys Ser | 2673 | | | | | |
| 80 | 85 | 90 | | | | |
| caa aag gtg ctg cca gat ggg cag gtc atc tgg gcc aac aac acc atc | | | | | | |
| Gln Lys Val Leu Pro Asp Gly Gln Val Ile Trp Ala Asn Asn Thr Ile | 2721 | | | | | |
| 95 | 100 | 105 | | | | |
| atc aat g gtgagtacct ctccgcctcc ttcccaaggc ccagaatccc tggatatcccc | | | | | | |
| Ile Asn | 2778 | | | | | |
| 110 | | | | | | |
| aatgagctca aggaatcctc ctcccttttt tttttttttt tttttacaaa ttatatatgt | | | | | | |
| aacacatatt cactgcagaa aaattagaaa acacagataa accaaaaaga aaaaaaatta | 2838 | | | | | |
| tagttcccca aatggggcac agaagacca gtggacatag aagttggata gacttggatt | 2898 | | | | | |
| taaactgggt accagtatgt gacctggac aagtcactga attgttttgt tcttccattc | 2958 | | | | | |
| ccttatctat agaatgggga tgataacact ttaaaagggt cttgtaagga ttaaaatgtg | 3018 | | | | | |
| ataatatata aagatttttag cataatgcct gccctgtgct gtgcttagta cttagtttta | 3078 | | | | | |
| gacgcttttg aaccccatgg actgtagccc accaggctcc tctgtccatg tggattctgc | 3138 | | | | | |
| aggcaagaat actggagtgg gtcaccatgc actcctccag gggatcttcc caactcaggg | 3198 | | | | | |
| atcgaaccca ggtcctagcc tacagtatta attgatgctg ttatttttac ttttatccca | 3258 | | | | | |
| ctagctagag cacatcatcc tagacatttt gatacatggc ctaccaattt gtgtccagtg | 3318 | | | | | |
| taagaatata catgtgtgtg ctcaagtggc cagtcgtgtc tgactctttg caaccccatg | 3378 | | | | | |
| gactgtagcc cgcgaaagct cctctgccc tgaggattgcc cagccaagaa tactgagca | 3438 | | | | | |
| ggttgccatt tcttctccca ggggatcttt attgaatcct tgtctcctgt | 3498 | | | | | |
| gtttcctgca ttggcagggt tattctttac cactgagcca cctgggaaac ccttaagta | 3558 | | | | | |
| tatacacata aatcttttat agtttccatt ctcccttcta ccactccaaa taggttatac | 3618 | | | | | |
| 3678 | | | | | | |

12/27

caaggagaat gtatttttggg agctaggcag tattcctgga gcccctctct gggagtcag 3738
 ttaaagggtt tgggtgtacag tgaggaatgc cagggattga gggagacttg ctgtcttctt 3798

 ttcag gg agc cag gtg tgg gga gga cag ctg gta tat ccc caa gaa cct 3847
 Gly Ser Gln Val Trp Gly Gly Gln Leu Val Tyr Pro Gln Glu Pro
 115 120 125

 gat gat acc tgc atc ttc ccc gat ggg gag ccc tgc cct tct ggc cct 3895
 Asp Asp Thr Cys Ile Phe Pro Asp Gly Glu Pro Cys Pro Ser Gly Pro
 130 135 140

 cta tct cag aaa aga tgc ttt gtt tat gtc tgg aag acc tgg g 3938
 Leu Ser Gln Lys Arg Cys Phe Val Tyr Val Trp Lys Thr Trp
 145 150 155

 gtaagagttt ccttctcttg gcctgtcatt cacacttaaa ttcacttctt cctacctgat 3998
 cccctttctt ttggtctcat ccttaaattc tgtgagtttc cctaactctt acttccccca 4058
 tgactccttc ctcttcacac gcacctagtc aactctatta tacttcttctc tgggagccct 4118
 gctccaatta tagtcccatc ccatggaccc tctcataagg acttttttcc tgcccaacat 4178
 atgcaagctt aaactctctg aaataaccat ccttgataca tctcctgacc ttccttctct 4238
 ggttccatct ctaaccctgc cccagtctcc tttgaccagt aacccccctt cctactcttc 4298

 tttccaaaaa cctca gac caa tac tgg caa gtt ctg ggg ggc cca gtg tct 4349
 Asp Gln Tyr Trp Gln Val Leu Gly Gly Pro Val Ser
 160 165

 gga ctg agc atc ggg aca gac aag gca atg ctg ggc aca tat aac atg 4397
 Gly Leu Ser Ile Gly Thr Asp Lys Ala Met Leu Gly Thr Tyr Asn Met
 170 175 180

 gaa gtg act gtc tac cac cgc cgg ggg tcc cag agc tat gtg ccc ctc 4445
 Glu Val Thr Val Tyr His Arg Arg Gly Ser Gln Ser Tyr Val Pro Leu
 185 190 195 200

 gct cac tcc agt tca gcc ttc acc att act g gtaaggactg aggaggggac 4496
 Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr Ile Thr
 205 210

 aaggccagtt gcagggcagg agaaggtggg gaggctgggc tggacaggaa aggggaaaga 4556
 ggaaatggtg tgtaacctta caggggcaga accaggaaga tgtgggcaga gggatgtggg 4616
 gcttggagcc cgtgaagggc caggcagctt gggttgggtg aaaaatatgg ctgtgaaaga 4676

 agaagctgac agaaagaaga acttatggtt ctcactttct ctgactccaa tccca gac 4734
 Asp

 cag gtg ccc ttc tct gtg agt gtg tct cag ctg cag gcc ttg gat gga 4782
 Gln Val Pro Phe Ser Val Ser Val Ser Gln Leu Gln Ala Leu Asp Gly
 215 220 225

 agg aac aag cgc ttc ctg aga aag cag cct ctg acc ttt gcc ctc cag 4830
 Arg Asn Lys Arg Phe Leu Arg Lys Gln Pro Leu Thr Phe Ala Leu Gln
 230 235 -240

 ctc cat gat ccc agt ggc tat ttg gct ggg gct gac ctt tcc tac acc 4878
 Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Gly Ala Asp Leu Ser Tyr Thr
 245 250 255

 tgg gac ttt ggt gac agt aca ggg acc ctg atc tct cgg gca ctc acg 4926
 Trp Asp Phe Gly Asp Ser Thr Gly Thr Leu Ile Ser Arg Ala Leu Thr
 260 265 270 275

| | |
|--|------|
| gtc act cac act tac cta gag tct ggc cca gtc act gca cag gtg gtg Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Ser Gly Pro Val Thr Ala Gln Val Val | 4974 |
| 280 285 290 | |
| ctg cag gct gcc att cct ctc acc tcc tgt ggc tcc tct cca gtt cca Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser Pro Val Pro | 5022 |
| 295 300 305 | |
| ggc act aca gat agg cat gtg aca act gca gag gct cct gga acc aca Gly Thr Thr Asp Arg His Val Thr Thr Ala Glu Ala Pro Gly Thr Thr | 5070 |
| 310 315 320 | |
| gct ggc caa gtg cct act aca gaa gtc atg ggc acc aca cct ggc cag Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Met Gly Thr Thr Pro Gly Gln | 5118 |
| 325 330 335 | |
| gtg cca act gca gag gcc cct ggc acc aca gtt ggg tgg gtg cca acc Val Pro Thr Ala Glu Ala Pro Gly Thr Thr Val Gly Trp Val Pro Thr | 5166 |
| 340 345 350 355 | |
| aca gag gat gta ggt acc aca cct gag cag gtg gca acc tcc aaa gtc Thr Glu Asp Val Gly Thr Thr Pro Glu Gln Val Ala Thr Ser Lys Val | 5214 |
| 360 365 370 | |
| tta agt aca aca cca gtg gag atg cca act gca aaa gct aca ggt agg Leu Ser Thr Thr Pro Val Glu Met Pro Thr Ala Lys Ala Thr Gly Arg | 5262 |
| 375 380 385 | |
| aca cct gaa gtg tca act aca gag ccc tct gga acc aca gtt aca cag Thr Pro Glu Val Ser Thr Thr Glu Pro Ser Gly Thr Thr Val Thr Gln | 5310 |
| 390 395 400 | |
| gga aca act cca gag ctg gtg gag acc aca gct gga gag gtg tcc act Gly Thr Thr Pro Glu Leu Val Glu Thr Thr Ala Gly Glu Val Ser Thr | 5358 |
| 405 410 415 | |
| cct gag cct gcg ggt tca aat act agc tca ttc atg cct aca gaa ggt Pro Glu Pro Ala Gly Ser Asn Thr Ser Ser Phe Met Pro Thr Glu Gly | 5406 |
| 420 425 430 435 | |
| act gca g gtaagggggc caccatgaat gagttcatag aggtggggca tttgtcacag Thr Ala | 5463 |
| ctctgaagac ctgaaagaat tgctcaggac ccagatgtta ctcaatcctt agcttagcag | 5523 |
| tgagagcccc tcagaatcct cactgggtttt aaaacccccct aagtccctct taatggcaca | 5583 |
| gaatagatcc agagttcagg aaaccagggt cttctcctag gccaggggta gagagcttat | 5643 |
| tctctcttcc tgaagagaag ttcaggaagc agtgtgtgat catttggtgg tgggtgctcag | 5703 |
| tcatgtctga ctctttgtga cctcatggac tatggcccac caggctcctc tgtccataga | 5763 |
| attctccagg caagaacact ggagtggttg gccatttcct tctccagggg attttccctg | 5823 |
| cccagggatt aaaccggaat tggcaggttg attctttacc catcccaaag cgagccacct agaaaagtc | 5883 |
| atgtgatcat tagataatac ttatacctca ttttctgatt aagtgtaaac acagaaatct | 5943 |
| ttctgacacc acttcccacc cctggattcc taggtttacc tggaattgtg | 6003 |
| gtaggaatac taaaaaggga gaagtgaagt agtgacacta tgacttaaca catgtcaaat | 6063 |
| gtctgaccca ggacctggca cagtgtaggg tgtgataaac atttggtatg tctaaaattc | 6123 |
| tgactctaac cctgtgactc tggggcagtc atttctcttg ggcttttctt tatcttaaaa | 6183 |
| aatgagaggt tccagctctt gtctgattct aagcctggat ccagtagctc tgactctacc | 6243 |
| tggaaaaaatg cttgttgggc ctgttttcag gttagtcatt tgctttttga ctttgccctc | 6303 |

| | |
|---|----------------------|
| ttaatcctct cctccag gc tcc ctg agt ccc ctg ccg gat gac act gcc Gly Ser Leu Ser Pro Leu Pro Asp Asp Thr Ala 440 445 | 6352 |
| acc tta gtc ctg gag aag cgc caa gcc ccc ctg gat tgt gtt ctg tat Thr Leu Val Leu Glu Lys Arg Gln Ala Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr 450 455 460 | 6400 |
| cgc tat ggc tcc ttt tcc ctc acc ctg gac att gtc c gtgagtcctg Arg Tyr Gly Ser Phe Ser Leu Thr Leu Asp Ile Val 465 470 475 | 6447 |
| cctacattgt ccgtaagctg gtggaggagg gcgtgtgctg cttaggggttg cccagtggaa gcacaccttg gaaggaatta ctacacctgga caaggagaat acccagatcc caggggtttc atatgaaggc agaatgggat tagggaggca gcccgaggac cttcctggcc atgggccttg | 6507 6567 6627 |
| ggggaggata agtagaggag tctcagactt aaaaaaatct tgcaactttg cag ag Gln | 6682 |
| ggt att gag agt gct gag atc cta cag gct gtg tca tcc agt gaa gga Gly Ile Glu Ser Ala Glu Ile Leu Gln Ala Val Ser Ser Ser Glu Gly 480 485 490 | 6730 |
| gat gca ttt gag ctg act gtg tct tgc caa ggc gg gtgagtgtcc Asp Ala Phe Glu Leu Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly 495 500 | 6775 |
| cacggttgcc ctgagaactc ctggggtgac tgctgtcctg ttctctggtg tctagtgtcc | 6835 |
| cttcccagat tccctgacgt aagctgacat ctctcccag g cta ccc aag gaa gcc Leu Pro Lys Glu Ala 510 | 6890 |
| tgc atg gac atc tca tgc cca ggg tgt cag ctg cct gcc cag cgg ctg Cys Met Asp Ile Ser Ser Pro Gly Cys Gln Leu Pro Ala Gln Arg Leu 515 520 525 | 6938 |
| tgt cag cct gtg ccc ccc agc cca gcc tgc cag ctg gtt ttg cac cag Cys Gln Pro Val Pro Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln 530 535 540 | 6986 |
| gta ctg aag ggt ggc tca ggg acc tac tgc ctc aat gtg tct ttg gct Val Leu Lys Gly Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala 545 550 555 | 7034 |
| gat gcc aat agc ctg gcg atg gtc agc acc cag ctt gtc atg cct g Asp Ala Asn Ser Leu Ala Met Val Ser Thr Gln Leu Val Met Pro 560 565 570 | 7080 |
| gtaggtagtt ggacaagagg taggatgaag acacggggag atggtagagg ttacctacta | 7140 |
| gaggaagcag acaactgaatg cagccgtatc tgggattcca cccatag gg caa gaa Gly Gln Glu 575 | 7195 |
| gca ggc ctc agg cag gct cct ctg ttc gtg ggc atc ttg ctg gtg cta Ala Gly Leu Arg Gln Ala Pro Leu Phe Val Gly Ile Leu Leu Val Leu 580 585 590 | 7243 |

15/27

aca gct ttg ttg ctt gca tct ctg ata tac ag gtgagatccc cgccatcctg 7295
 Thr Ala Leu Leu Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg
 595 600

ctcccaactcc tttaccacctt attaccacca ccactcttcc tcatgggaag aagaaaccac 7355
 caaccctttt gggaaagtgt agagtccaag aaagagccca gacttggaag ttcaacaggt 7415
 ctaggctgca gtcttgctgg tgggaccctg gggaagtcca ttaacccttc tgagccactg 7475
 aaaagtagga aacataatac ctgtcctgtg gggctgtttt cagggctcta gacaatgtga 7535
 gtaaaacacc tggttctgaa acaaaagtgg aataaatgat gatctcaatg actgttggtta 7595
 tgaataatat caacagtggg gaagaactca gtgaactgag ttctccacct gccagaaagg 7655
 caaatcccta ggcctggagg gctgaggtcc tcaaagcagg gaagcctgta gggtagagagg 7715
 gaaatggtca gagcttacca taaacataag agaggataaa ccctgttggt gagaagagga 7775
 gggagccagg atcaagacca agtcaacctg gggtatggtt tagtcttttt tttttagaga 7835
 agcacaaga ggttgccatt gaccaccact aaccagtatc cctgcttttc tcccaatatc 7895

ag g cga aga ctt atg aag caa ggc tca gca gtc ccc ctt ccc cag ctg 7943
 Arg Arg Leu Met Lys Gln Gly Ser Ala Val Pro Leu Pro Gln Leu
 605 610 615

cca cac ggt aga acc cag tgg cta cgt ctg ccc tgg gtc ttc cgc tct 7991
 Pro His Gly Arg Thr Gln Trp Leu Arg Leu Pro Trp Val Phe Arg Ser
 620 625 630

tgc ccc att ggt gag agc aaa ccc ctc ctc agt gga cag cag gtc 8036
 Cys Pro Ile Gly Glu Ser Lys Pro Leu Leu Ser Gly Gln Gln Val
 635 640 645

tgagtgtctt tatgtgaagt catgatttac ccagggtggac agcaaggcct gtcttttctc 8096
 tgggtcttccc tcagagacta ccattgcttg aaataaagac tcagaacttg 8146

<210> 4
 <211> 649
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 4

Met Asp Leu Val Leu Arg Lys Tyr Leu Leu His Val Ala Leu Met Gly
 1 5 10 15

Val Leu Leu Ala Val Arg Thr Thr Glu Gly Pro Arg Asp Arg Asp Trp
 20 25 30

Leu Gly Val Ser Arg Gln Leu Arg Ile Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu
 35 40 45

Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ser Gln Gly Pro Asp Cys Trp Arg Gly Gly
 50 55 60

His Ile Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu Ile Gly Ala
 65 70 75 80

Asn Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu His Phe Pro Lys Ser Gln Lys Val
 85 90 95

Leu Pro Asp Gly Gln Val Ile Trp Ala Asn Asn Thr Ile Ile Asn Gly
 100 105 110

Ser Gln Val Trp Gly Gly Gln Leu Val Tyr Pro Gln Glu Pro Asp Asp
 115 120 125

16/27

Thr Cys Ile Phe Pro Asp Gly Glu Pro Cys Pro Ser Gly Pro Leu Ser
 130 135 140
 Gln Lys Arg Cys Phe Val Tyr Val Trp Lys Thr Trp Asp Gln Tyr Trp
 145 150 155 160
 Gln Val Leu Gly Gly Pro Val Ser Gly Leu Ser Ile Gly Thr Asp Lys
 165 170 175
 Ala Met Leu Gly Thr Tyr Asn Met Glu Val Thr Val Tyr His Arg Arg
 180 185 190
 Gly Ser Gln Ser Tyr Val Pro Leu Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr
 195 200 205
 Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val Ser Val Ser Gln Leu Gln Ala
 210 215 220
 Leu Asp Gly Arg Asn Lys Arg Phe Leu Arg Lys Gln Pro Leu Thr Phe
 225 230 235 240
 Ala Leu Gln Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Gly Ala Asp Leu
 245 250 255
 Ser Tyr Thr Trp Asp Phe Gly Asp Ser Thr Gly Thr Leu Ile Ser Arg
 260 265 270
 Ala Leu Thr Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Ser Gly Pro Val Thr Ala
 275 280 285
 Gln Val Val Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser
 290 295 300
 Pro Val Pro Gly Thr Thr Asp Arg His Val Thr Thr Ala Glu Ala Pro
 305 310 315 320
 Gly Thr Thr Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Met Gly Thr Thr
 325 330 335
 Pro Gly Gln Val Pro Thr Ala Glu Ala Pro Gly Thr Thr Val Gly Trp
 340 345 350
 Val Pro Thr Thr Glu Asp Val Gly Thr Thr Pro Glu Gln Val Ala Thr
 355 360 365
 Ser Lys Val Leu Ser Thr Thr Pro Val Glu Met Pro Thr Ala Lys Ala
 370 375 380
 Thr Gly Arg Thr Pro Glu Val Ser Thr Thr Glu Pro Ser Gly Thr Thr
 385 390 395 400
 Val Thr Gln Gly Thr Thr Pro Glu Leu Val Glu Thr Thr Ala Gly Glu
 405 410 415
 Val Ser Thr Pro Glu Pro Ala Gly Ser Asn Thr Ser Ser Phe Met Pro
 420 425 430
 Thr Glu Gly Thr Ala Gly Ser Leu Ser Pro Leu Pro Asp Asp Thr Ala
 435 440 445

17/27

Thr Leu Val Leu Glu Lys Arg Gln Ala Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr
 450 455 460
 Arg Tyr Gly Ser Phe Ser Leu Thr Leu Asp Ile Val Gln Gly Ile Glu
 465 470 475 480
 Ser Ala Glu Ile Leu Gln Ala Val Ser Ser Ser Glu Gly Asp Ala Phe
 485 490 495
 Glu Leu Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met
 500 505 510
 Asp Ile Ser Ser Pro Gly Cys Gln Leu Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln
 515 520 525
 Pro Val Pro Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln Val Leu
 530 535 540
 Lys Gly Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Ala
 545 550 555 560
 Asn Ser Leu Ala Met Val Ser Thr Gln Leu Val Met Pro Gly Gln Glu
 565 570 575
 Ala Gly Leu Arg Gln Ala Pro Leu Phe Val Gly Ile Leu Leu Val Leu
 580 585 590
 Thr Ala Leu Leu Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg Arg Arg Leu Met Lys
 595 600 605
 Gln Gly Ser Ala Val Pro Leu Pro Gln Leu Pro His Gly Arg Thr Gln
 610 615 620
 Trp Leu Arg Leu Pro Trp Val Phe Arg Ser Cys Pro Ile Gly Glu Ser
 625 630 635 640
 Lys Pro Leu Leu Ser Gly Gln Gln Val
 645

<210> 5
 <211> 8143
 <212> ADN
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> CDS
 <222> (30)..(102)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (2323)..(2433)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (2579)..(2725)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (3801) .. (3935)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (4312) .. (4473)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (4730) .. (5410)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (6318) .. (6434)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (6678) .. (6762)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (6872) .. (7077)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (7185) .. (7272)
 <223>

<220>
 <221> CDS
 <222> (7895) .. (8033)
 <223>

<400> 5
 ggtctttggt tgctggaagg aagaacagg atg gat ctg gtg ctg aga aaa tac 53
 Met Asp Leu Val Leu Arg Lys Tyr
 1 5

ctt ctc cat gtg gct ctg atg ggt gtt ctg gct gta ggg acc aca gaa g 102
 Leu Leu His Val Ala Leu Met Gly Val Leu Ala Val Gly Thr Thr Glu
 10 15 20

gtgagtgtgg gatgttggac atgaacaagt gtgaatttgg gggtgcacac ctgctctggt 162
 ttttctctcc ctaaaatgga agatatcagt agtgcttcag gtgtctccca cccatttgat 222
 ttagtgagga catgggcaac tgagctccct ccccatctac ctggatgggt gcatgtgtgt 282
 tcaggcactt gggactgaac ctgaaaacaa ccccatctac ctggatgggt gagagaacag 342
 tatgtctccg tggccctaata tttgagatgc tctgaatagt gagctggaac atgggtgcca 402
 aggtagtata atgagtggaa actcatttag gctttgtctc aggcacttgg gatagggtat 462
 ttaggagata gagaaagata ggagatagga gaaaggagaa agaggatgtg gtattggata 522
 gaagggtaat gaggcacctc atccccctct tgggatgggc atgggtgaac acagcccagg 582
 cttttgttct ggggctggaa gagacaggca gaaggggtctc agctgagcat cacatgaaag 642
 ggctctgggg gattggggcc tcgtgacagg agcaaggcgg gtgggggtggg gatggtgaga 702
 gggctctgaa tgtcccgtgc tgctctgagg agggaggatt gggagtggag aaagaatggg 762
 gcatcttatg attctcttgt tcttgtggtg aggtattcag tgggataatt ctagatcctc 822

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|-------------|-------------|------------|------------|-----------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|-----|-----|-----|------|
| tgataacact | ttaaaagggtt | cttgtaagga | ttaaaatgtg | ataatatata | aagatttttag | 3095 | | | | | | | | | | |
| cataatgcct | gccctgtgct | gtgcttagta | ccttagttta | gacgctttgc | aaccccatgg | 3155 | | | | | | | | | | |
| actgtagccc | accaggctcc | tctgtccatg | tggattctgc | aggcaagaat | actggagtgg | 3215 | | | | | | | | | | |
| gtcaccatgc | actcctccag | gggatcttcc | caactcaggg | atcgaaccca | ggtccttagcc | 3275 | | | | | | | | | | |
| tacagtatta | attgatgctg | ttattttttac | ttttatccca | ctagctagag | cacatcatcc | 3335 | | | | | | | | | | |
| tagacatttt | gatacatggc | ctaccaattt | gtgtccagtg | taagaatata | catgtgtgtg | 3395 | | | | | | | | | | |
| ctcagtggct | cagtcgtgtc | tgactctttg | caaccccatg | gactgtagcc | cgcgaaagct | 3455 | | | | | | | | | | |
| cctctgcccc | tgggattgcc | cagccaagaa | tactggagca | ggttgccatt | tcttcctcca | 3515 | | | | | | | | | | |
| ggggatcttt | caacacaggg | attgaatcct | tgtctcctgt | gtttcctgca | ttggcaggtg | 3575 | | | | | | | | | | |
| tattctttac | cactgagcca | cctgggaaac | cccttaagta | tatacacata | aatcttttat | 3635 | | | | | | | | | | |
| agtttccatt | ctcccttcta | ccactccaaa | taggttatac | caaggagaat | gtattttggt | 3695 | | | | | | | | | | |
| agctaggcag | tattcctgga | gcccctctct | gggagtcatg | ttaaagggtt | tggtgtacag | 3755 | | | | | | | | | | |
| tgaggaatgc | cagggattga | gggagacttg | ctgtcttctt | ttcag | gg agc cag gtg | 3811 | | | | | | | | | | |
| | | | | | Gly Ser Gln Val | | | | | | | | | | | |
| tg | gga | gga | cag | ctg | gta | tat | ccc | caa | gaa | cct | gat | gat | acc | tgc | atc | 3859 |
| Trp | Gly | Gly | Gln | Leu | Val | Tyr | Pro | Gln | Glu | Pro | Asp | Asp | Thr | Cys | Ile | |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | | 130 | |
| ttc | ccc | gat | ggg | gag | ccc | tgc | cct | tct | ggc | cct | cta | tct | cag | aaa | aga | 3907 |
| Phe | Pro | Asp | Gly | Glu | Pro | Cys | Pro | Ser | Gly | Pro | Leu | Ser | Gln | Lys | Arg | |
| | | | 135 | | | | | | 140 | | | | | 145 | | |
| tgc | ttt | gtt | tat | gtc | tgg | aag | acc | tgg | g | gtaagagttt | cccttctctg | | | | | 3955 |
| Cys | Phe | Val | Tyr | Val | Trp | Lys | Thr | Trp | | | | | | | | |
| | | 150 | | | | | | 155 | | | | | | | | |
| gcctgtcatt | cacacttaaa | ttcacttctt | cctacctgat | cccctttctt | ttggtctcat | 4015 | | | | | | | | | | |
| ccttaaattc | tgtgagtttc | cctaattctt | acttccccca | tgactccttc | ctcttccaca | 4075 | | | | | | | | | | |
| gcacctagtc | aactctatta | tacttctttc | tgggagccct | gctccaatta | tagtcccata | 4135 | | | | | | | | | | |
| ccatggaccc | tctcataagg | acttttttcc | tgcccaacat | atgcaagctt | aaactctctg | 4195 | | | | | | | | | | |
| aaataaccat | ccttgataca | tctcctgacc | ttccttctct | ggttccatct | ctaaccctgc | 4255 | | | | | | | | | | |
| cccagtctcc | tttgaccagt | aacccccctt | cctactcttc | tttccaaaaa | cctcag ac | 4313 | | | | | | | | | | |
| | | | | | Asp | | | | | | | | | | | |
| caa | tac | tgg | caa | gtt | ctg | ggg | ggc | cca | gtg | tct | gga | ctg | agc | atc | ggg | 4361 |
| Gln | Tyr | Trp | Gln | Val | Leu | Gly | Gly | Pro | Val | Ser | Gly | Leu | Ser | Ile | Gly | |
| | | | 160 | | | | | 165 | | | | | | 170 | | |
| aca | gac | aag | gca | atg | ctg | ggc | aca | tat | aac | atg | gaa | gtg | act | gtc | tac | 4409 |
| Thr | Asp | Lys | Ala | Met | Leu | Gly | Thr | Tyr | Asn | Met | Glu | Val | Thr | Val | Tyr | |
| | | 175 | | | | | 180 | | | | | | 185 | | | |
| cac | cgc | cgg | ggg | tcc | cag | agc | tat | gtg | ccc | ctc | gct | cac | tcc | agt | tca | 4457 |
| His | Arg | Arg | Gly | Ser | Gln | Ser | Tyr | Val | Pro | Leu | Ala | His | Ser | Ser | Ser | |
| | 190 | | | | 195 | | | | | 200 | | | | | | |
| gcc | ttc | acc | att | act | g | gtaaggactg | aggaggggac | aaggccagtt | gcagggcagg | | | | | | | 4513 |
| Ala | Phe | Thr | Ile | Thr | | | | | | | | | | | | |
| 205 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| agaaggtggg | gaggctgggc | tggacaggaa | aggggaaaga | ggaaatggtg | tgtaacctta | 4573 | | | | | | | | | | |
| caggggcaga | accaggaaga | tgtgggcaga | gggatgtggg | gcttggagcc | cgtgaagggc | 4633 | | | | | | | | | | |
| caggcagctt | gggttggttg | aaaaatatgg | ctgtgaaaga | agaagctgac | aqaaagaaga | 4693 | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|-------------|------------|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| acttatgggtt | ctcacttttct | ctgactccaa | tcccag | ac | cag | gtg | ccc | ttc | tct | | | | | | | | 4746 |
| | | | | Asp | Gln | Val | Pro | Phe | Ser | | | | | | | 215 | |
| gtg | agt | gtg | tct | cag | ctg | cag | gcc | ttg | gat | gga | agg | aac | aag | cgc | ttc | | 4794 |
| Val | Ser | Val | Ser | Gln | Leu | Gln | Ala | Leu | Asp | Gly | Arg | Asn | Lys | Arg | Phe | | |
| | | | | 220 | | | | | 225 | | | | | | 230 | | |
| ctg | aga | aag | cag | cct | ctg | acc | ttt | gcc | ctc | cag | ctc | cat | gat | ccc | agt | | 4842 |
| Leu | Arg | Lys | Gln | Pro | Leu | Thr | Phe | Ala | Leu | Gln | Leu | His | Asp | Pro | Ser | | |
| | | | 235 | | | | | 240 | | | | | 245 | | | | |
| ggc | tat | ttg | gct | ggg | gct | gac | ctt | tcc | tac | acc | tgg | gac | ttt | ggg | gac | | 4890 |
| Gly | Tyr | Leu | Ala | Gly | Ala | Asp | Leu | Ser | Tyr | Thr | Trp | Asp | Phe | Gly | Asp | | |
| | | 250 | | | | | 255 | | | | | 260 | | | | | |
| agt | aca | ggg | acc | ctg | atc | tct | cgg | gca | ctc | acg | gtc | act | cac | act | tac | | 4938 |
| Ser | Thr | Gly | Thr | Leu | Ile | Ser | Arg | Ala | Leu | Thr | Val | Thr | His | Thr | Tyr | | |
| | 265 | | | | | 270 | | | | | 275 | | | | | | |
| cta | gag | tct | ggc | cca | gtc | act | gca | cag | gtg | gtg | ctg | cag | gct | gcc | att | | 4986 |
| Leu | Glu | Ser | Gly | Pro | Val | Thr | Ala | Gln | Val | Val | Leu | Gln | Ala | Ala | Ile | | |
| 280 | | | | | 285 | | | | | 290 | | | | | 295 | | |
| cct | ctc | acc | tcc | tgt | ggc | tcc | tct | cca | gtt | cca | ggc | act | aca | gat | agg | | 5034 |
| Pro | Leu | Thr | Ser | Cys | Gly | Ser | Ser | Pro | Val | Pro | Gly | Thr | Thr | Asp | Arg | | |
| | | | | 300 | | | | | 305 | | | | | 310 | | | |
| cat | gtg | aca | act | gca | gag | gct | cct | gga | acc | aca | gct | ggc | caa | gtg | cct | | 5082 |
| His | Val | Thr | Thr | Ala | Glu | Ala | Pro | Gly | Thr | Thr | Ala | Gly | Gln | Val | Pro | | |
| | | | 315 | | | | | 320 | | | | | 325 | | | | |
| act | aca | gaa | gtc | atg | ggc | acc | aca | cct | ggc | cag | gtg | cca | act | gca | gag | | 5130 |
| Thr | Thr | Glu | Val | Met | Gly | Thr | Thr | Pro | Gly | Gln | Val | Pro | Thr | Ala | Glu | | |
| | | 330 | | | | | 335 | | | | | 340 | | | | | |
| gcc | cct | ggc | acc | aca | gtt | ggg | tgg | gtg | cca | acc | aca | gag | gat | gta | ggg | | 5178 |
| Ala | Pro | Gly | Thr | Thr | Val | Gly | Trp | Val | Pro | Thr | Thr | Glu | Asp | Val | Gly | | |
| | 345 | | | | | 350 | | | | | 355 | | | | | | |
| acc | aca | cct | gag | cag | gtg | gca | acc | tcc | aaa | gtc | tta | agt | aca | aca | cca | | 5226 |
| Thr | Thr | Pro | Glu | Gln | Val | Ala | Thr | Ser | Lys | Val | Leu | Ser | Thr | Thr | Pro | | |
| 360 | | | | | 365 | | | | | 370 | | | | | 375 | | |
| gtg | gag | atg | cca | act | gca | aaa | gct | aca | ggg | agg | aca | cct | gaa | gtg | tca | | 5274 |
| Val | Glu | Met | Pro | Thr | Ala | Lys | Ala | Thr | Gly | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Ser | | |
| | | | | 380 | | | | | 385 | | | | | 390 | | | |
| act | aca | gag | ccc | tct | gga | acc | aca | gtt | aca | cag | gga | aca | act | cca | gag | | 5322 |
| Thr | Thr | Glu | Pro | Ser | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Gln | Gly | Thr | Thr | Pro | Glu | | |
| | | | 395 | | | | | 400 | | | | | | | | | |

| | | | | | | |
|---|---|------------|-------------|-------------|------------|------|
| caccatgaat | gagttcatag | aggtggggca | tttgtcacag | ctctgaagac | ctgaaagaat | 5480 |
| tgctcaggac | ccagatgtta | ctcaatcctt | agcttagcag | tggagtcacc | tcagaatctt | 5540 |
| cactggtttt | aaaaccccct | aagtcctctt | taatggcaca | gaatagatcc | agagttcagg | 5600 |
| aaaccagggg | cttctcctag | gccaggggta | gagagcttat | tctctcttcc | tgaagagaag | 5660 |
| ttcaggaagc | agtgtgtgat | catttggttg | tgggtgctcag | tcatgtctga | ctctttgtga | 5720 |
| cctcatggac | tatggcccac | caggctcctc | tgtccataga | attctccagg | caagaacact | 5780 |
| ggagtgggtg | gccatttcct | tctccagggg | atcttccttg | cccaggggatt | aaacccgaat | 5840 |
| tggcaggtgg | attctttacc | cgagccacct | agaaagtccc | atgtgatcat | tagataatac | 5900 |
| ttatacctca | ttttctgatt | aagtgtaaac | acagaaatct | ttctgacacc | acttcccacc | 5960 |
| cctggattcc | catcccaaag | taggtttacc | tgggaattgtg | gtaggaatac | taaaaaggga | 6020 |
| gaagtgaagat | agtgaactta | tgacttaaca | catgtcaaat | gtctgaccca | ggacctggca | 6080 |
| cagtgtaggg | tgtgataaac | atctgggatg | tctaaaattc | tgactctaac | cctgtgactc | 6140 |
| tggggcagtc | atttctcttg | ggcctttctt | tatcttaaaa | aatgagagtt | tccagctctt | 6200 |
| gtctgattct | aagcctggat | ccagtagctc | tgactctacc | tggaaaaatg | cttggtgggc | 6260 |
| ctgttttcag | gttagtcatt | tgctttttga | ctttgcctct | ttaatcctct | cctccag | 6317 |
| | | | | | | |
| gc tcc ctg agt ccc ctg ccg gat gac act gcc acc tta gtc ctg gag | | | | | | 6364 |
| Gly Ser Leu Ser Pro Leu Pro Asp Asp Thr Ala Thr Leu Val Leu Glu | | | | | | |
| 440 | 445 | 450 | | | | |
| | | | | | | |
| aag cgc caa gcc ccc ctg gat tgt gtt ctg tat cgc tat ggc tcc ttt | | | | | | 6412 |
| Lys Arg Gln Ala Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg Tyr Gly Ser Phe | | | | | | |
| 455 | 460 | 465 | | | | |
| | | | | | | |
| tcc ctc acc ctg gac att gtc c gtgagtccttg cctacattgt ccgtaagctg | | | | | | 6464 |
| Ser Leu Thr Leu Asp Ile Val | | | | | | |
| 470 | 475 | | | | | |
| | | | | | | |
| gtggagggag gcgtgtgctg cttaggggttg cccagtgga gacacacctg gaaggaatta | | | | | | 6524 |
| ctcacctgga caaggagaat acccagatcc caggggtttc atatgaaggc agaattggat | | | | | | 6584 |
| tagggaggca gcccgaggac cttcctggcc atgggccttg ggggaggata agtagaggag | | | | | | 6644 |
| | | | | | | |
| tctcagactt aaaaaaatct tgcaactttg cag ag ggt att gag agt gct gag | | | | | | 6697 |
| | Gln Gly Ile Glu Ser Ala Glu | | | | | |
| | 480 | | | | | |
| | | | | | | |
| atc cta cag gct gtg tca tcc agt gaa gga gat gca ttt gag ctg act | | | | | | 6745 |
| Ile Leu Gln Ala Val Ser Ser Ser Glu Gly Asp Ala Phe Glu Leu Thr | | | | | | |
| 485 | 490 | 495 | | | | |
| | | | | | | |
| gtg tct tgc caa ggc gg gtgagtgctc cacgggttgcc ctgagaactc | | | | | | 6792 |
| Val Ser Cys Gln Gly Gly | | | | | | |
| 500 | | | | | | |
| | | | | | | |
| ctgggggtgac tgctgtcctg ttctctgggtg tctagtgtcc cttcccagat tccctgacgt | | | | | | 6852 |
| | | | | | | |
| aagctgacat ctctcccag g cta ccc aag gaa gcc tgc atg gac atc tca | | | | | | 6902 |
| | Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met Asp Ile Ser | | | | | |
| | 505 | 510 | | | | |
| | | | | | | |
| tcg cca ggg tgt cag ctg cct gcc cag cgg ctg tgt cag cct gtg ccc | | | | | | 6950 |
| Ser Pro Gly Cys Gln Leu Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln Pro Val Pro | | | | | | |
| 515 | 520 | 525 | 530 | | | |
| | | | | | | |
| ccc agc cca gcc tgc cag ctg gtt ttg cac cag gta ctg aag ggt ggc | | | | | | 6998 |
| Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln Val Leu Lys Gly Gly | | | | | | |
| | 535 | 540 | 545 | | | |
| | | | | | | |
| tca ggg acc tac tgc ctc aat gtg tct ttg gct gat gcc aat agc ctg | | | | | | 7046 |
| Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Ala Asn Ser Leu | | | | | | |
| 550 | 555 | 560 | | | | |

gcg atg gtc agc acc cag ctt gtc atg cct g gtaggtagtt ggacaagagg 7097
 Ala Met Val Ser Thr Gln Leu Val Met Pro
 565 570

taggatgaag acacggggag atggtagagg ttacctacta gaggaagcag acactgaatg 7157

cagccgtatc tgggattcca cccatag gg caa gaa gca ggc ctc agg cag gct 7210
 -- Gly Gln Glu Ala Gly Leu Arg Gln Ala
 575 580

cct ctg ttc gtg ggc atc ttg ctg gtg cta aca gct ttg ttg ctt gca 7258
 Pro Leu Phe Val Gly Ile Leu Leu Val Leu Thr Ala Leu Leu Ala
 585 590 595

tct ctg ata tac ag gtgagatccc cgccatcctg ctcccactcc tttaccctt 7312
 Ser Leu Ile Tyr Arg
 600

attaccacca ccactcttcc tcatgggaag aagaaaccac caaccctttt gggaaagtgt 7372
 agagtccaag aaagagccca gacttggaag ttcaacaggt ctaggctgca gtcttgctgg 7432
 tgggacctg ggggaagtcca ttaacccttc tgagccactg aaaagtagga aacataatac 7492
 ctgtcctgtg gggctgtttt cagggctcta gacaatgtga gtaaaacacc tggttctgaa 7552
 acaaaagtgg aataaatgat gatctcaatg actgttgta tgaataatat caacagtgga 7612
 gaagaactca gtgaactgag ttctccacct gccagaaagg caaatcccta ggcctggagg 7672
 gctgaggtcc tcaaagcagg gaagcctgta gggtagagagg gaaatggta gagcttacca 7732
 taaacataag agaggataaa ccctgttggt gagaagagga gggagccagg atcaagacca 7792
 agtcaacctg ggttatggtt tagtcttttt tttttagaga agcacaaaga ggttgccatt 7852

gaccaccact aaccagtatc cctgcttttc tccaatatc ag g cga aga ctt atg 7907
 Arg Arg Leu Met
 605

aag caa ggc tca gca gtc ccc ctt ccc cag ctg cca cac ggt aga acc 7955
 Lys Gln Gly Ser Ala Val Pro Leu Pro Gln Leu Pro His Gly Arg Thr
 610 615 620

cag tgg cta cgt ctg ccc tgg gtc ttc cgc tct tgc ccc att ggt gag 8003
 Gln Trp Leu Arg Leu Pro Trp Val Phe Arg Ser Cys Pro Ile Gly Glu
 625 630 635

agc aaa ccc ctc ctc agt gga cag cag gtc tgagtgtct tatgtgaagt 8053
 Ser Lys Pro Leu Leu Ser Gly Gln Gln Val
 640 645

catgatttac ccaggtggac agcaaggcct gtcttttctc tgggtcttccc tcagagacta 8113
 ccattgcctg aaataaagac tcagaacttg 8143

<210> 6

<211> 648

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 6

Met Asp Leu Val Leu Arg Lys Tyr Leu Leu His Val Ala Leu Met Gly
 1 5 10 15

Val Leu Ala Val Gly Thr Thr Glu Gly Pro Arg Asp Arg Asp Trp Leu
 20 25 30

24/27

Gly Val Ser Arg Gln Leu Arg Ile Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu Tyr
 35 40 45
 Pro Glu Trp Thr Glu Ser Gln Gly Pro Asp Cys Trp Arg Gly Gly His
 50 55 60
 Ile Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu Ile Gly Ala Asn
 65 70 75 80
 Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu His Phe Pro Lys Ser Gln Lys Val Leu
 85 90 95
 Pro Asp Gly Gln Val Ile Trp Ala Asn Asn Thr Ile Ile Asn Gly Ser
 100 105 110
 Gln Val Trp Gly Gly Gln Leu Val Tyr Pro Gln Glu Pro Asp Asp Thr
 115 120 125
 Cys Ile Phe Pro Asp Gly Glu Pro Cys Pro Ser Gly Pro Leu Ser Gln
 130 135 140
 Lys Arg Cys Phe Val Tyr Val Trp Lys Thr Trp Asp Gln Tyr Trp Gln
 145 150 155 160
 Val Leu Gly Gly Pro Val Ser Gly Leu Ser Ile Gly Thr Asp Lys Ala
 165 170 175
 Met Leu Gly Thr Tyr Asn Met Glu Val Thr Val Tyr His Arg Arg Gly
 180 185 190
 Ser Gln Ser Tyr Val Pro Leu Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr Ile
 195 200 205
 Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val Ser Val Ser Gln Leu Gln Ala Leu
 210 215 220
 Asp Gly Arg Asn Lys Arg Phe Leu Arg Lys Gln Pro Leu Thr Phe Ala
 225 230 235 240
 Leu Gln Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Gly Ala Asp Leu Ser
 245 250 255
 Tyr Thr Trp Asp Phe Gly Asp Ser Thr Gly Thr Leu Ile Ser Arg Ala
 260 265 270
 Leu Thr Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Ser Gly Pro Val Thr Ala Gln
 275 280 285
 Val Val Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser Pro
 290 295 300
 Val Pro Gly Thr Thr Asp Arg His Val Thr Thr Ala Glu Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Thr Thr Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Met Gly Thr Thr Pro
 325 330 335
 Gly Gln Val Pro Thr Ala Glu Ala Pro Gly Thr Thr Val Gly Trp Val
 340 345 350

Pro Thr Thr Glu Asp Val Gly Thr Thr Pro Glu Gln Val Ala Thr Ser
 355 360 365
 Lys Val Leu Ser Thr Thr Pro Val Glu Met Pro Thr Ala Lys Ala Thr
 370 375 380
 Gly Arg Thr Pro Glu Val Ser Thr Thr Glu Pro Ser Gly Thr Thr Val
 385 390 395 400
 Thr Gln Gly Thr Thr Pro Glu Leu Val Glu Thr Thr Ala Gly Glu Val
 405 410 415
 Ser Thr Pro Glu Pro Ala Gly Ser Asn Thr Ser Ser Phe Met Pro Thr
 420 425 430
 Glu Gly Thr Ala Gly Ser Leu Ser Pro Leu Pro Asp Asp Thr Ala Thr
 435 440 445
 Leu Val Leu Glu Lys Arg Gln Ala Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg
 450 455 460
 Tyr Gly Ser Phe Ser Leu Thr Leu Asp Ile Val Gln Gly Ile Glu Ser
 465 470 475 480
 Ala Glu Ile Leu Gln Ala Val Ser Ser Ser Glu Gly Asp Ala Phe Glu
 485 490 495
 Leu Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met Asp
 500 505 510
 Ile Ser Ser Pro Gly Cys Gln Leu Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln Pro
 515 520 525
 Val Pro Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln Val Leu Lys
 530 535 540
 Gly Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Ala Asn
 545 550 555 560
 Ser Leu Ala Met Val Ser Thr Gln Leu Val Met Pro Gly Gln Glu Ala
 565 570 575
 Gly Leu Arg Gln Ala Pro Leu Phe Val Gly Ile Leu Leu Val Leu Thr
 580 585 590
 Ala Leu Leu Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg Arg Arg Leu Met Lys Gln
 595 600 605
 Gly Ser Ala Val Pro Leu Pro Gln Leu Pro His Gly Arg Thr Gln Trp
 610 615 620
 Leu Arg Leu Pro Trp Val Phe Arg Ser Cys Pro Ile Gly Glu Ser Lys
 625 630 635 640
 Pro Leu Leu Ser Gly Gln Gln Val
 645

<210> 7
 <211> 294
 <212> ADN
 <213> Séquence artificielle

<220>
 <223> Sonde

<400> 7
 gttgctggaa ggaagaacag gatggatctg gtgctgagaa aataccttct ccatgtggct 60
 ctgatgggtg ttcttctggc tgtagggacc acagaagggtg agtgtgggat gttggacatg 120
 aacaagtgtg aatttggggt tgcacacctg ctctggtttt tctctcccta aaatggaaga 180
 tatcagtagt gcttcagggt tctcccaccc atttgattta gtgaggacat gggcaactga 240
 gctccctccc cacatgaaga tttgggtgca tgtgtgttca ggcacttggg actg 294

<210> 8
 <211> 294
 <212> ADN
 <213> Séquence artificielle

<220>
 <223> Sonde

<400> 8
 gttgctggaa ggaagaacag gatggatctg gtgctgagaa aataccttct ccatgtggct 60
 ctgatgggtg ttcttctggc tgtaaggacc acagaagggtg agtgtgggat gttggacatg 120
 aacaagtgtg aatttggggt tgcacacctg ctctggtttt tctctcccta aaatggaaga 180
 tatcagtagt gcttcagggt tctcccaccc atttgattta gtgaggacat gggcaactga 240
 gctccctccc cacatgaaga tttgggtgca tgtgtgttca ggcacttggg actg 294

<210> 9
 <211> 291
 <212> ADN
 <213> Séquence artificielle

<220>
 <223> Sonde

<400> 9
 gttgctggaa ggaagaacag gatggatctg gtgctgagaa aataccttct ccatgtggct 60
 ctgatgggtg ttctggctgt agggaccaca gaagggtgagt gtgggatgtt ggacatgaac 120
 aagtgtgaat ttgggggttg acacctgctc tgggttttct ctccctaaaa tggaagatat 180
 cagtagtgct tcagggtgtc cccaccatt tgatttagtg aggacatggg caactgagct 240
 ccctccccac atgaagattt ggggtgcatgt gtgttcaggc acttgggact g 291

<210> 10
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Séquence artificielle

<220>
 <223> Amorce

<400> 10
 gttgctggaa ggaagaacag gatggatctg

<210> 11
<211> 30
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Amorce

<400> 11
cagtcccaag tgcctgaaca cacatgcacc